

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

DEPARTAMENTO ACADÉMICO AGROSILVO PASTORIL

ESCUELA ACADÉMICO-PROFESIONAL DE AGRONOMIA



TESIS

**HONGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES EN LA RIZÓSFERA DE
GENOTIPOS PROMISORIOS DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) BAJO LOS
SISTEMAS TRADICIONAL Y BAJO BOSQUE EN LA REGIÓN SAN MARTÍN.**

PRESENTADO POR EL BACHILLER:

JOSÉ CARLOS ROJAS GARCÍA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO

TARAPOTO – PERÚ

2010

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

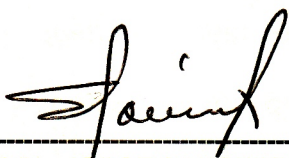
DEPARTAMENTO ACADÉMICO AGROSILVO PASTORIL

ESCUELA ACADÉMICO-PROFESIONAL DE AGRONOMIA

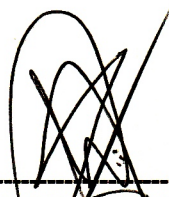
ÁREA SUELOS Y CULTIVOS

TESIS

**HONGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES EN LA RIZÓSFERA DE
GENOTIPOS PROMISORIOS DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) BAJO LOS
SISTEMAS TRADICIONAL Y BAJO BOSQUE EN LA REGION SAN MARTÍN.**



Ing. M.Sc. JORGE SANCHEZ RIOS
Presidente



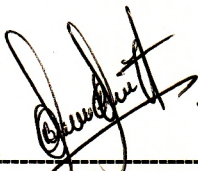
Ing. M. Sc. CESAR E. CHAPPA SANTA MARÍA
Secretario



Ing. M. Sc. JAVIER ORMEÑO LUNA
Miembro



Ing. M. Sc. ARMANDO D. CUEVA BENAVIDES
Asesor



Ing. M. Sc. BETSABE LEON TTACCA
Co-asesor

TARAPOTO – PERÚ

2010

DEDICATORIA

Con todo el amor y cariño a mi hermosa familia.

A mis padres Elvira y Manuel por todo el apoyo incondicional que me brindaron y la motivación constante para salir adelante en mi futura vida profesional.

A mi hermosa señora Gina y
a mi querida hijita Camila
Paola.

A mis queridos Tíos Rita
Elena y Juan Fortunato, que
siempre me brindaron su
apoyo en todo momento.

A mis amados Abuelitos, Julio y
Lusdina, Tíos, Primos y Primas
en especial a Rosa Luz Gonzales
García, que siempre me
brindaron su apoyo en todo
momento.

AGRADECIMIENTO ESPECIAL

A la Ing. M.Sc. Betsabe León TTacca, por ser partícipe de este trabajo de investigación, como Co-asesora, y su invalorable tiempo dedicado a la culminación y corrección del mismo.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Martín UNSM, que a través del Ing. M. Sc. Armando Cueva Benavides e Ing. M. Sc. Carlos Rengifo Saavedra, catedráticos de dicha institución de estudios, ha contribuido en la realización del presente trabajo de investigación.

Al Instituto de Cultivos Tropicales ICT, por el financiamiento, asesoramiento y permitirme realizar el presente trabajo de investigación.

Ing. M. Sc. Enrique Arévalo Gardini, por su apoyo y confianza en permitirme realizar el presente trabajo de investigación.

Ing. M. Sc. Luis Zúñiga Cernades, por su orientación científica brindada hacia mi persona.

Ing. M. Sc. Kadir García Márquez, por el apoyo brindado en todo el proceso del presente trabajo de investigación y en la fase de procesamiento de datos en la parte estadística.

Biólogo Winston Franz Ríos Ruiz, que desde el inicio de la tesis mostro interés en ayudarme y gracias a él nos facilitó metodologías para dar inicio al trabajo de investigación.

Ing. Pedro Ruiz Cubillas, por su apoyo en la enseñanza en perfeccionar los protocolos para la realización del trabajo de investigación y en la corrección de la redacción técnica del trabajo.

Biólogo Juan Arévalo Quevedo, por motivarme a realizar este trabajo de investigación.

A la familia Sánchez Torres, por el apoyo brindado para la culminación de este trabajo de investigación y en especial a Gina Paola Sánchez Torres.

Biólogo Boris Gutarra, por haberme enseñado a traducir los artículos científicos del idioma portugués al idioma español.

Ing. M. Sc. Javier Ormeño Luna, por el asesoramiento en la interpretación de los datos estadísticos.

Delmar A. Olivera Cayotopa y Jaime Cayotopa Torres, por sus consejos y recomendaciones en la realización del trabajo de investigación.

Ing. Agustín Cerna Mendosa, por el apoyo moral mostrada en mi persona para concluir con este trabajo de investigación.

ÍNDICE

	Pág
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVO	4
III. REVISIÓN DE LITERATURA	5
3.1 Importancia económica del cacao	5
3.2 Taxonomía del cacao	6
3.3 Micorrizas	6
3.3.1 Micorrizas arbusculares	8
3.3.2 Importancia de los hongos micorrizicos arbusculares	12
3.3.3 Clasificación actual de las micorrizas arbusculares	16
3.3.4 Característica de la asociación micorrizica arbuscular	21
3.3.5 Morfología de la simbiosis micorrizica arbuscular	22
3.3.6 Fisiología y Anatomía de la colonizacion micorrizica	23
3.3.7 Factores bióticos que afectan a las micorrizas	26
3.3.8 Propagación de las esporas de los HMA para la clasificación taxonómica	28
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	30
4.1 Área de estudio y localización de los sitios de muestreo	30
4.2 Sistemas de producción	30
4.3 Genotipos promisorios	33
4.4 Propiedades físicas y químicas del suelo	35
4.5 Muestreo de suelos y raíces	37
4.6 Colonización micorrizica	39
4.7 Cuantificación de esporas	39
4.8 Identificación de los hongos micorrizicos arbusculares HMA	41
4.9 Diseño experimental y análisis estadístico	42
4.10 Parámetros evaluados	42
4.10.1 Porcentaje de colonización	42
4.10.2 Número de esporas viables	43
4.10.3 Identificación de principales géneros de hongos micorrizicos arbusculares	44
V. RESULTADOS	45
5.1 Colonización micorrizica	45
5.1.1 Aspectos anatómicos de la colonización micorrizica en cacao	45
5.1.2 Porcentaje de colonización micorrizica	46
5.2 Número de esporas viables	49
5.3 Identificación de los hongos micorrizicos arbusculares	52
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	61
6.1 Colonización micorrizica	61
6.1.1 Aspectos anatómicos de la colonización micorrizica en cacao	61
6.2 Porcentaje de colonización micorrizica	62

6.3	Número de esporas viables	67
6.4	Identificación de los hongos micorrizicos arbusculares	71
VII	CONCLUSIONES	73
VII	RECOMENDACIONES	75
IX.	RESUMEN	76
X.	SUMMARY	78
XI.	BIBLIOGRAFÍA	80
	ANEXO	

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Clasificación taxonómica (Adaptado de INVAM, 2006).

Figura 02. Clasificación taxonómica actual de los HMA (Tomado de AMF-Phylogeny.com, 2006)

Figura 03. Vista satelital de la estación experimental el Choclino y área de muestreo de los dos sistemas de producción.

Figura 04. Vista panorámica de los dos sistemas de producción de cacao.

Figura 05. Muestreo de suelos y raíces.

Figura 06. Montaje de raíces para la evaluación del porcentaje de colonización micorrizica.

Figura 07. Estructuras de los Hongos micorrizicos arbusculares.

Figura 08. Morfotipos de esporas y esporocarpo de hongos micorrizicos arbusculares identificados en el sistema bajo bosque.

Figura 09. Morfotipos de esporas de hongos micorrizicos arbusculares identificados en el sistema tradicional.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01. Ubicación de los genotipos de cacao en los bloques de los dos sistemas BMS y TS.

Gráfico 02. Distribución de la precipitación durante el periodo del estudio.

Gráfico 03. Colonización micorrizica en raíces de genotipos de cacao en dos sistemas de producción bajo dos épocas de muestreo.

Gráfico 04. Colonización micorrizica en raíces de genotipos de cacao bajo dos épocas de muestreo.

Gráfico 05. Prueba de Tukey al 0.05% para el número de esporas asociados a la rizosfera de genotipos promisorios de cacao en dos sistemas de producción bajo dos épocas de muestreo.

Gráfico 06. Prueba de Tukey al 0.05% para el número de esporas de los HMA asociados a genotipos promisorios de cacao bajo dos épocas de muestreo.

Gráfico 07. Número de esporas de los HMA de acuerdo a su coloración asociados a genotipos promisorios de cacao bajo dos sistemas de producción.

LISTA DE CUADROS

- Cuadro 01. Propiedades físicas y químicas de suelo de cacao en BMS y ST en una escala máxima y mínima.
- Cuadro 02. Análisis de varianza de la colonización micorrizica en raíces de genotipos promisorios de cacao BMS y ST en la época húmeda.
- Cuadro 03. Análisis de varianza de la colonización micorrizica en raíces de genotipos promisorios de cacao BMS y ST en la época seca.
- Cuadro 04. Porcentaje promedio de colonización micorrizica en raíces de genotipos promisorios de cacao en dos sistemas de producción bajo dos épocas de muestreo.
- Cuadro 05. Porcentaje promedio de colonización micorrizica en diferentes genotipos promisorios de cacao bajo dos épocas de muestreo.
- Cuadro 06. Análisis de varianza de la población de los HMA en la rizosfera de genotipos promisorios de cacao (*Theobroma cacao*) bajo dos sistemas de producción en la época húmeda.
- Cuadro 07. Análisis de varianza de la población de los HMA en la rizosfera de genotipos promisorios de cacao (*Theobroma cacao*) bajo dos sistemas de producción en la época seca.
- Cuadro 08. Número promedio de esporas asociados a la rizosfera de genotipos promisorios de cacao en dos sistemas de producción bajo dos épocas de muestreo.
- Cuadro 09. Número promedio de esporas asociados a la rizosfera de genotipos promisorios de cacao bajo dos épocas.

Cuadro 10. Clasificación de Hongos micorrizicos arbusculares de acuerdo a su coloración de esporas.

Cuadro 11. Morfotipos encontrados en el sistema bajo bosque y sistema tradicional.

ANEXO

Anexo Nº 01: Detalle de los genotipos seleccionados para los analisis quimico, fisico y biologico en el experimento del Sistema bajo bosque y el sistema tradicional.

Colección de cacao ICT Juanjui y Tocache instalados en el Sistema Agroforestal de la Estación Experimental El Choclino.

Nº Genotipo	Código	Nombre del Agricultor N Matriz	Procedencia
1	ICT - 1026	Timoteo Cuello López (Matriz VI)	Juanjui
2	ICT - 1112	Pedro Tuanama Tapullima (Matriz II)	Juanjui
3	ICT - 2142	Antonio Flores Vigo (Matriz II)	Tocache
4	ICT - 2162	Visitación Zegarra (Matriz II)	Tocache
5	ICT - 2171	Javier De La Cruz Gonzáles (MatrizI)	Tocache

Colección de cacao nacional introducidos en el Sistema Agroforestal – Estación Experimental El Choclino.

Nº Genotipo	Código	Origen	Procedencia
6	U - 30	Colección Ucayali	Ucayali - Perú / BG T.María
7	H - 35	Colección Huallaga	Huallaga-Perú/ BG T.María

Colección de cacao internacional introducidos en el Sistema Agroforestal – Estación Experimental El Choclino.

Nº de genotipo	Código	Origen	Procedencia
8	ICS -95	Imperial College Selections	Trinidad / Tobago
9	UF – 613	Unit Fruit Company	
10	CCN - 51	Castro Naranjal collection	Ecuador
11	Hibrido	Local	San Martín, Perú

Anexo Nº 02: Metodología de colonización micorrizica.



Anexo Nº 03: Metodología de extracción de esporas.



IX. RESUMEN

El presente trabajo de investigación se desarrolló en la estación experimental “El Choclino” localizado en el distrito de la Banda de Shilcayo. Con el objetivo general de contribuir al conocimiento de los hongos micorrízicos arbusculares presentes en la rizósfera de genotipos promisorios de cacao (*Theobroma cacao* L.) en dos sistemas de producción en la región San Martín; donde, se determinó la colonización radicular, cuantificó la población e identificó los hongos micorrizicos arbusculares a nivel de género.

Para este trabajo las muestras fueron colectadas en dos épocas del año y se utilizó un diseño de Bloques Completo Randomizado (DBCR) con tres repeticiones, el cual fueron ajustados al arreglo factorial 2 x11, Los factores y sus niveles de estudio fueron: Sistema de producción (Sistema bajo bosque y sistema tradicional); y Genotipos de cacao (ICT-2142, CCN-51, ICT-1112, ICT-1026, ICT-2162, ICT-2171, ICS-95, UF-613, U-30, H-35,Híbrido).

Los resultados Indican que en la época Húmeda, el sistema bajo bosque se determinó el valor más alto en porcentaje de colonización con 82.04% de los genotipos evaluados; mientras que, en el sistema tradicional presento un menor porcentaje de colonización con 65.25%. Sin embargo, en la época seca, el sistema tradicional fue quien presento el mayor porcentaje de

colonización con 65.76% y un menor porcentaje en el sistema bajo bosque con un 56.46%.

En el número de esporas en sistema bajo bosque en la época húmeda se encontró la mayor población de HMA con 7164.24 esporas/100 g de suelo; mientras que en el sistema tradicional presento una menor población de HMA con 5646.49 esporas /100 g de suelo. Sin embargo en la época seca, el sistema bajo bosque también presento mayor número de esporas con 683.04/100 g de suelo y un menor número en el sistema tradicional con 370.59 esporas /100 g de suelo.

Se identificaron 21 morfotipos correspondiente a especies del género, *Glomus* y *Acaulospora*, siendo el género *Glomus* el más predominante en suelos de los dos sistemas de producción.

Palabras claves: Hongos micorrizicos arbusculares, Sistemas de producción de cacao, Genotipos Promisorios.

X. SUMMARY

The current research is developed at the experimental farm “El Choclino” ubicada in the district of Banda de shilcayo. This work was done in order to contribute to the widespread knowledge about Arbuscular Mycorrhizal fungi which is found in rhizosphere of promising genotype of cacao and which is also produced by two different systems of production in the district of San Martin, where its colonization area was identified, its population was quantified and Arbuscular Mycorrhizal fungi and its gender was determined.

Many samples were collected in two periods of the year and a Randomized Complete Block Design (RCBD) with three replicates was used which was adjusted to factorial arrangement 2 X11. Different factors and levels of studies were the followings: systems of production (Low forest system and traditional system) ; genotypes of cacao (ICT – 2142, CCN – 51, ICT – 1112 , ICT – 1026, ICT – 2162, ICT-2171, ICS-95, UF-613, U-30, H-35, Hybrid).

The results indicate that during humid time, the highest percentage of colonization of the evaluated genotypes was found in the low forest system, about 82.04%, whereas a lower percentage of colonization was identified in the traditional system, about 65.25%. On the other side, during dry time, the traditional system showed more percentage of colonization 65.76% compared to that percentage which was generated in the low forest 56.46%.

In the number of spores that are located in the low forest system during the humid time, a big population of HMA with 7164.24 spores/ 100gr on land, was found, while, the traditional system presented a less population of HMA with 564649 spores /100gr on land. Nevertheless during the dry period, a big numbers of spores with 683.04/100gr on land can be observed on the low forest system and a less number with 370.59 spores /100gr on land was also observed in the traditional system.

21 morphotypes related to gender, glomus and acaulospora were identified, although glomus gender was the most prevailing on lands where belonged to those systems of production.

Key words: Arbuscular Mycorrhizal fungi, systems of production of cacao, promising genotypes

I. INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un cultivo de gran importancia económica en diversos países del mundo y en el Perú, es una especie originaria de los trópicos húmedos, cuyas almendras constituyen el insumo básico de la industria del chocolate y otros derivados.

San Martín es la región que mas áreas ha incrementado en estos últimos años con 6 846.50 Has, cuya producción alcanzó 12 440.22 Ton. en el año 2009 (DEA - San Martín, 2010), Actualmente existen aproximadamente 29 561.5 ha sembradas con un rendimiento promedio de 793.45 Kg/ha. Cabe indicar, que la capacidad de uso mayor de los suelos de la región San Martín, según APODESA y APECO (MINAG, 2004), indica que existe un potencial entre 155,000 a 190,000 ha aptas para el cultivo, que de ser cubiertas ubicarían a San Martín como el primer productor de cacao en el Perú y al Perú como el tercer productor a nivel latinoamericano (IICO, 2003).

Por otro lado, los suelos de la Amazonía en su mayoría son extremadamente ácidos y de baja fertilidad, como Oxisoles y Ultisoles, que ocupan aproximadamente el 75% de la amazonía peruana (Sanchez, 1982). La utilización del sistema tradicional (ST) o técnicas agrícolas convencionales (rozo, tumba, picacheo y quema), en estos suelos conlleva a la degradación de los mismos y como consecuencia su abandono al perder su capacidad productiva. Tales características presentan mayores restricciones para la explotación agrícola.

En este contexto, la búsqueda de alternativas de manejo que racionalicen el uso de los suelos de la región es fundamental para el desarrollo económico continuo y ambientalmente sustentable. Los sistemas bajo bosque ó agroforestales (SAF), se presentan como la mejor opción por su permanencia, producción diversificada y en diferentes épocas del año, buscando la optimización de la producción por unidad de área, por el uso eficiente de sus componentes, abióticos y bióticos (Nair, 1993).

Dentro de los recursos bióticos, los microorganismos del suelo juegan un rol vital en la sostenibilidad del sistema ya que intervienen en los procesos bioquímicos que tienen que ver con la descomposición de la materia orgánica, mineralización de nutrientes y su disponibilidad para las plantas, resultando en un reciclamiento eficiente, importante para el crecimiento y desarrollo de las especies de plantas.

La adopción de estrategias biológicas, entonces, se presenta como una alternativa promisorio a ser considerada en el manejo de los sistemas agroforestales en los suelos ácidos de la Amazonía.

En este sentido, se ha determinado que la mayoría de plantas en la Amazonia están asociadas simbióticamente con ciertos hongos benéficos del suelo formando micorrizas, principalmente del tipo arbuscular.

Los hongos de micorriza arbuscular (HMA) merecen especial atención por sus efectos benéficos como: aumento en la capacidad de absorción de las raíces, aumento en la movilización y transferencia de nutrientes (P, N, S, Cu, Zn) del suelo a

la planta, mejor desarrollo de microorganismos solubilizadores de P en la micorrizósfera, aumento en el establecimiento, nodulación y capacidad de fijación de nitrógeno atmosférico en leguminosas, modificación en las relaciones planta-patógeno, secreción de antibióticos, aumento en la producción de hormonas de crecimiento, modificación de la relación suelo-planta-agua y mejor agregación de las partículas del suelo (Ruíz, 2008).

Sin embargo, la investigación sobre las relaciones micorriza-cacao, es muy escasa o inexistente en la Amazonía Peruana, aunque existen experiencias en otros ambientes tropicales como en Brasil, Colombia, Costa Rica, países africanos, etc.

El presente trabajo de investigación pretende determinar la colonización micorrízica, cuantificar e identificar los HMA en dos sistemas de producción de cacao (SPC).

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Contribuir al conocimiento de los hongos micorrízicos arbusculares presentes en la rizósfera de genotipos promisorios de cacao (*Theobroma cacao* L.) en dos sistemas de producción en la región San Martín.

2.2. Objetivos específicos

Determinar la colonización radicular de los hongos micorrizicos arbusculares presentes en la rizósfera de genotipos promisorios de cacao (*Theobroma cacao* L.) en dos sistemas de producción en la región San Martín.

Cuantificar la población de hongos micorrizicos arbusculares en la rizósfera de genotipos promisorios de cacao (*Theobroma cacao* L.) en dos sistemas de producción en la región San Martín.

Identificar los hongos micorrizicos arbusculares a nivel de género en la rizósfera de genotipos promisorios de cacao (*Theobroma cacao* L.) en dos sistemas de producción en la región San Martín.

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1 Importancia económica del cacao

Desde hace mas de dos siglos, el cacao (*Theobroma cacao* L.) se ha destacado como un rubro de gran importancia comercial en el ámbito mundial, ya que este es utilizado como materia prima para la obtención de diversos productos de la industria de alimentos (confitería, bebidas), la industria cosmetología y la farmacéutica. De esta manera, se puede identificar el proceso de comercialización y distribución del rubro como un componente de enlace a través de todo el circuito cacaoteros, el cual se inicia con el productor agrícola hasta el consumidor final.

El género *Theobroma* es originario de América Tropical, específicamente de la cuenca alta del río Amazonas. El género posee algunas especies de gran relevancia económica en los trópicos, principalmente *Theobroma cacao* y en mucho menor grado *T.grandiflorum* y *T. bicolor*. Las semillas de *T. cacao* se han empleado a lo largo de la historia para la preparación de bebidas y otros alimentos, como moneda, bebida ceremonial y tributo a reyes. Esta especie se encuentra actualmente distribuida a lo largo de las regiones lluviosas de los trópicos, desde los 20° de latitud norte hasta los 20° de latitud sur (Organización Internacional del Cacao, ICCO 2003).

La producción de cacao en el Perú llega a las 31,500 toneladas, y las zonas se ubican en la parte baja de la vertiente oriental de los Andes, siendo las principales zonas productoras del Valle del río Apurímac - Ene (Junín, Ayacucho

y Cusco), el Valle de la convención (Cuzco), el Valle del Huallaga (Huánuco, San Martín), el Valle de Tambo (Junín), y el Valle del Marañón (Cajamarca y Amazonas) (Asociación Peruana de Productores de Cacao - APPCACAO, 2009).

3.2 Taxonomía del cacao

Esta especie esta clasificada taxonómicamente de la siguiente manera (Leon, 1987).

División:	Fanerógamas
Clase:	Angiosperma
Sub clase:	Dicotiledónea
Orden:	Malvales
Familia:	Sterculeaceae
Género:	<i>Theobroma</i>
Especie:	<i>Theobroma cacao</i> L.

3.3 Micorrizas

Una de las simbiosis más sobresalientes en la naturaleza ocurre entre las raíces de las plantas superiores con un tipo especial de hongo en el suelo. Esta asociación simbiótica, se denomina micorriza, nombre que significa “hongo de la raíz” (del griego *myces*: hongo y *rhiza*: raíz). Por otra parte, Frank un patólogo forestal alemán, en 1885, acuño el termino micorriza, definiéndolo como simbiosis mutualista formada por las raíces de las plantas hospedantes y un

hongo del suelo, llamado actualmente hongo micorrizico (Simón *et al.*, 1993, citado por Tapia, 2003).

La micorriza es la simbiosis mutualista (asociación no patogénica) entre ciertos hongos del suelo y las raíces de las mayorías de las plantas terrestres (Sieverding, 1991; Bethlenfalvay *et al.*, 1991, citado por Tapia 2003). El hongo micorrizico arbuscular es considerado un simbiote obligado, mutualista cuyo desarrollo se conoce desde hace 400 millones de años, particularmente en el periodo Devoniano, lo que permite suponer que la colonización y evolución de las plantas en la tierra fue factible gracias a la co-evolución entre ellas y los HMA (Simón *et al.*, 1993; Remy *et al.*, 1994; Barker *et al.*, 1998, citado por Tapia, 2003).

Por definición, la micorriza debe entenderse como una estructura especializada con diversas funciones, la cual se origina al asociarse, en forma mutualista, los diversos grupos de hongos específicos, con el sistema radicular de las plantas. Algunas veces existen confusiones con la definición, principalmente cuando se dice que la micorriza corresponde a hongos que se establecen en la raíz de la planta, debiéndose de entender que los hongos micorrizicos o micorrizogenos, son aquellos que originan la estructura denominada micorriza (Linderman, 1992, citado por Tapia, 2003).

Se ha mencionado que existen de manera natural diversos hongos que se establecen en el sistema radicular y que a partir de este proceso se origina la micorriza. Sin, embargo, en forma natural, se pueden reconocer diversos tipos de micorriza, los que se presentan en el ecosistema en función de las características relacionadas con la presencia de fósforo y nitrógeno, tanto

orgánico como inorgánico, y su relación con el tipo de vegetación primaria. El mayor grupo de hongos endomicorrizicos es la micorriza arbuscular y están asociadas con una gran mayoría de especies vegetales (Linderman, 1992, citado por Tapia, 2003).

Actualmente los dos tipos de micorriza más importantes desde el punto de vista aplicativo en los sistemas agrícolas y forestales son la endomicorriza arbuscular y ectomicorriza. Sin embargo, la endomicorriza arbuscular (Antes vesículo-arbuscular) tiene una distribución más amplia y es la que tiene más repercusión biológica y económica en la mayoría de los cultivos agrícolas de clima templado, árido, tropical y subtropical (Simón *et al.*, 1993, citado por Tapia, 2003).

3.3.1 Micorrizas arbusculares

Las micorrizas arbusculares están ampliamente distribuidas en condiciones naturales, se encuentran en todos los continentes, excepto en la Antártida; se dan en todos los suelos, incluyendo los de minas abandonadas, suelos agrícolas, suelos de pantanos y en hábitat acuáticos (Azcon y Barea, 1980; Bolan, 1991; Corwell, 2001; Tang *et al.*, 2001, citado por Pérez *et al.*, 2009).

Los hongos micorrizicos arbusculares (HMA), son un importante factor biológico dentro de la estructura y funcionamiento de los suelos, e inciden sobre el comportamiento ecológico, en la productividad y composición de las comunidades vegetales naturales, así como de cultivos agrícolas y plantaciones forestales. Los hongos formadores de micorriza arbusculares son considerados, como parte de la diversidad biológica de los suelos y

deben ser incluidos tanto en los inventarios como en los análisis de la biodiversidad a nivel de ecosistemas (Guerrero, 1996; Van Der Heijden, 1998; Barea, 1998; Jeffries y Barea, 1999, citado por Pérez, 2009).

Los HMA Establecen relaciones mutualistas con gran número de plantas (Sieverding, 1991, citado por Tapia, 2003). Esta es una asociación íntima entre las raíces de cerca del 80% de las plantas y hongos del orden Glomales, este orden de hongos está formada por cinco familias y siete géneros constituyendo mayor eficiencia y toma de nutrientes, especialmente de fósforo, cuando su disponibilidad es deficiente (Morton & Redecker, 2001, citado por Cornejo, 2006).

La abundancia de los hongos micorrizicos arbusculares en el suelo es dependiente de las características físicas y químicas del mismo. En este aspecto, la supervivencia de estos endófitos, está limitada por la profundidad del suelo y se señala que en los primeros 20 ó 30 cm del perfil del suelo son más abundantes; es decir el número de esporas y el grado de colonización radicular es menor conforme la profundidad es mayor (Abbott y Robson, 1991, citado por Tapia, 2003).

La ocurrencia y funcionalidad ecológica de los HMA, varía con relación a la variabilidad estacional e influye en las plantas dominantes, de esta manera, la vegetación existente y la variación estacional, son factores determinantes en la presencia de los HMA. En este sentido, en los agroecosistemas, la vegetación nativa con cierto grado de micotrofía, juega un papel definitivo para que los HMA, puedan establecerse y ser

funcionales en cultivos de importancia agrícola (Sanders y Fitter, 1992, citado por Tapia, 2003).

La colonización de las raíces por HMA, provocan alteraciones morfológicas y anatómicas en las plantas hospedadas, como cambios en la relación tallo-raíz, en la estructura de los tejidos radicales, en el número de cloroplastos, aumento de resistencia y alteraciones de los balances hormonales, efectos que no solo son explicables como una simple mejora nutritiva de la planta, aumentando la eficacia en la absorción de nutrientes por la raíz gracias a la formación de la micorriza, sino que responde a cambios más profundos y complejos debido a la integración fisiológica de los simbioses (Barea *et al.*, 2000, citado por Tapia, 2003).

Los HMA, participan como agentes de regulación de las comunidades microbianas que se desarrollan en los sistemas radicales micorrizados. La interacción de los hongos con otros microorganismos permite regular poblaciones de microorganismos fitopatógenos de hábito radical y mediante la habilidad que tiene los hongos micorrizicos de incrementar la macrobiótica benéfica, esta puede presentar actividad antagónica, ya sea por antibiosis o mico parasitismo (Linderman, 1992, citado por Tapia, 2003).

El conocimiento de los procesos involucrados en el establecimiento de la simbiosis micorrizica, permite que el éxito de la colonización de las raíces por los hongos benéficos, puede realizarse al tiempo o edad apropiada en que las plantas hospedantes la necesitan, este conocimiento será la base de los lineamientos a seguir en el manejo del suelo con la finalidad de

maximizar los beneficios que la simbiosis provee (Abbott y Gasey, 1994, citado por Tapia, 2003).

La relativa tolerancia de algunos endófitos a perturbaciones específicas en sus nichos, inducirá hongos con características para persistir en ambientes específicos, este tipo de situaciones tiene consecuencias en la funcionalidad de los HMA, dentro de las comunidades vegetales, sin embargo, para tener más clara la función de estos endófitos, se requiere mayor conocimiento de la ecología de las especies fúngicas (Sanders y Fitter, 1992, citado por Tapia, 2003).

Se ha estudiado poco el efecto de la humedad del suelo sobre el establecimiento y función de los HMA, algunas observaciones de campo e invernadero han sugerido que las esporas de los HMA, inhiben su germinación bajo presión hídrica, con la subsiguiente escasa colonización de las raíces. Se ha establecido que también el estado del agua en la planta también puede afectar la colonización de la raíz, por ejemplo, la suberización o déficit hídrico, origina que las esporas se colapsen y no puedan germinar (Sieverding, 1991, citado por Tapia, 2003).

El aprovechamiento adecuado de los recursos que la naturaleza nos ofrece juega un papel muy importante en la agricultura, siendo los HMA un potencial considerable en la sustitución de los fertilizantes inorgánicos, ya que esta asociación mutualista es generalizada en la mayoría de los cultivos. Asimismo debido a lo anterior, las plantas colonizadas por estos hongos, se tornan más tolerantes a las condiciones adversas tales como

los cambios de pH, desbalance de nutrimentos, salinidad, sequia y algunos elementos tóxicos (Barea, 1991, citado por Tapia, 2003).

Las condiciones climatológicas (Intensidad y duración de luz, época de lluvia y sequia) y las prácticas agronómicas (Preparación de terreno, aplicación de abonos, agroquímicos, rotación de cultivos, uso de plaguicidas y prácticas de sistemas culturales) puede modificar las condiciones físicas y químicas del suelo, afectando la supervivencia de los HMA nativos e introducidos en el suelo (Bethlenfalvay *et al.* 1991, citado por Tapia, 2003).

3.3.2 Importancia de los hongos Micorrizicos Arbusculares

Los microorganismos, como parte integral de la rizósfera, llevan a cabo actividades que modifican la morfología y fisiológica de las plantas y el ambiente del suelo. Entre los microorganismos que conforman la rizósfera se encuentran los hongos de los que se derivan diversas actividades benéficas para las plantas como son, aumento en la disponibilidad de los nutrientes del suelo y producción de reguladores de crecimiento de la planta (Pelczar y Chan, 1984, citado por Tapia, 2003).

Los que habitan en el suelo constituyen gran parte del protoplasma microbiano total de ese ambiente, es la región en la que se sustenta la vida vegetal y de la cual obtienen sus nutrientes, siendo uno de los sitios más dinámicos en interacciones biológicas. De esta manera desempeñan un papel muy importante en la biosfera, actuando en la degradación de la materia orgánica, contribuyendo de esta manera a la fertilidad del suelo

como resultado de su participación en el ciclo del carbono (Smith y Read, 1997, citado por Tapia, 2003).

Entre las asociaciones mutualistas existentes algunas especies de hongos y las raíces de las plantas, como es el caso de la micorriza arbuscular, estimulan el crecimiento, desarrollo y nutrición de las plantas, especialmente en suelos de baja fertilidad y moderada fertilidad los estudios llevados a cabo han puesto de manifiesto que dichos efectos se deben a que la micorriza mejora sustancialmente la absorción de los nutrientes y agua por la planta y que el principal nutriente implicado es el fósforo (Barea *et al.*, 2002, citado por Tapia, 2003). El hongo incrementa la absorción de fósforo y algunos otros microelementos poco disponibles y móviles para las plantas como, calcio, zinc, cobre y azufre, a cambio de algunos compuestos orgánicos que contribuyen a su desarrollo (Barea *et al.*, 2000, citado por Tapia, 2003).

La absorción de los iones menos móviles depende del volumen del suelo explorado por el sistema de raíces absorbentes. En este caso, la micorriza tiene ventaja sobre la raíz no micorrizada porque el micelio externo se extiende a mayor distancia que los pelos radicales. Diversas estimaciones (Finlay y Soderstrom 1992, citado por Blacol y Salas, 1997). Indican que 1cm de raíz micorrizada contiene entre 80 y 3000 cm de micelio extra radical. Estimaciones más recientes (Miller *et al.*, 1995, citado por Blacol y Salas, 1997) dan datos de 111 m/cm cúbico en pradera y 81 m/cm cúbico del suelo, respectivamente. La micorriza absorbe sus nutrientes del mismo

reservorio (solución suelo) que la raíz (Sieverding 1991, citado por Blanco y Salas, 1997).

Si bien la contribución de los HMA a la nutrición mineral de la planta hospedera y su protección frente a estreses tanto bióticos como abióticos, está fuera de toda duda, en la actualidad parecieran tener un rol protagónico en el almacenamiento de carbono y en la agregación del suelo al producir las hifas del hongo una glicoproteína denominada glomalina, con fuerte capacidad cementante y alta estabilidad en el suelo (Wright & Upadhyaya, 1998; Rillig *et al.*, 2002, citado por Morales *et al.*, 2001). El comportamiento recalcitrante de la glomalina junto a su naturaleza glicoproteína y su aparente característica hidrófoba que protege las hifas de las pérdidas de nutrientes y agua, sugieren que es una biomolécula muy estable (Wright & Upadhyaya, 1998, citado por Morales *et al.*, 2001) con una vida media entre 6-42 años (Rillig *et al.*, 2001, citado por Morales *et al.*, 2001) y lenta velocidad de degradación la cual depende del suelo de origen (Rillig *et al.*, 2002; 2003, citado por Morales *et al.*, 2001). La repelencia al agua y su capacidad de humectación tienen fuerte incidencia en la erosión de los suelos por lo que estas proteínas fúngicas, semejantes a las hidrofobinas producidas por hongos filamentosos, podrían estar jugando un papel fundamental en la estabilidad estructural de los suelos (Rillig, 2005, citado por Morales *et al.*, 2001).

Las plantas micotróficas exhiben diferente grado de dependencia micorrizica. Mientras que las plantas obligadas (ej. Yuca. Puerro y muchas leguminosas tropicales) no puede crecer sin micorriza aun suelos fértiles

(altos en P), las plantas facultativas (ej. Muchas gramíneas, frijol, chile, etc.) Se benefician de la colonización micorrizica incrementando su crecimiento cuando los niveles de P son bajos. Estas pueden sobrevivir y crecer sin micorriza en condiciones de suelos fértiles (Janos 1980, citado por Blancel y Salas, 1997).

La arquitectura tridimensional del micelio externo de los hongos micorrizicos, además de incrementar la absorción de nutrientes para las plantas, contribuye a la estabilización de agregados al mantener físicamente unidas a las partículas del suelo (Tisdall, 1994, citado por Tapia, 2003).

Se sabe que la mayor parte de los suelos naturales de la selva tienen un bajo contenido en fósforo asimilable, e incluso la mayoría de los suelos arables productivos necesitan un aporte considerable de fertilizante fosfatado para mantener su fertilidad. En efecto, el 95-99% del fósforo de un suelo está integrado en compuestos orgánicos o inorgánicos insolubles. De otro lado, se conoce que el ritmo de absorción de los iones fosfato por la planta es superior al del desplazamiento de dichos iones desde el suelo no rizosferico hacia la raíz. Ello condiciona que se forme una zona de agotamiento del elemento en la rizosfera. Esta zona de agotamiento, que ha podido ser puesta de manifiesto por auto radiografía, es la base que justifica que el PO_4^{3-} sea el factor limitante del crecimiento de las plantas en gran número de suelos.

Efectivamente, el desplazamiento del ión fosfato hacia la raíz tiene lugar por difusión; en su camino hacia la planta se fija fácilmente a arcillas y

coloides del suelo por medio de combinaciones insolubles con calcio, hierro o aluminio (Barea, 2002).

Los mecanismos propuestos para explicar la mayor capacidad de absorción de fósforo por las plantas están basados en lo siguiente: (a) que la micorrización induzca cambios morfológicos en la planta; (b) que la micorrización induzca cambios fisiológicos, lo que provocaría un incremento de la capacidad de la superficie de la raíz para absorber fósforo; (c) que la micorrización proporcione una superficie de absorción adicional (hifas del hongo), o más eficaz; (d) que las hifas o las raíces no infectadas y (e) que la raíz micorrizada tenga más longevidad que la que no lo está (Barea, 2002).

Los hongos micorrizicos se encuentran en todos los ecosistemas terrestres y muy bien podrían representar el segundo componente más grande en biomasa, en muchos de ellos, otro papel muy importante de los hongos en los ecosistemas, es su participación en las cadenas tróficas (Barea, 2002).

3.3.3 Clasificación actual de las micorrizas arbusculares

Morton y Benny (1990, citado por Cabrales, 2006), clasifican a las MA en base a caracteres morfológicos, funciones fisiológicas y criterios monofiléticos. Esta clasificación taxonómica ubica a estos hongos dentro del orden Glomales, el cual sólo contiene a estos endosimbiontes, con dos subórdenes: Glominae, Gigasporinae, tres familias: Glomaceae, Acaulosporaceae y Gigasporaceae, y seis géneros: *Glomus*, *Sclerocystis*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora* y *Scutellospora*.

Esta clasificación ha sido replanteada por muchos autores (Schüßler, Schwarzott and Walker, 2001, citado por Cabrales, 2006) con base a técnicas moleculares RNAr 18s, agrupando a estos hongos dentro del orden Glomeromycota, incluyendo los Subordenes Glominae y Gigasporinae, cinco familias: Paraglomaceae, Archaeosporaceae, Glomaceae, Acaulosporaceae y Gigasporaceae, y siete géneros: *Paraglomus*, *Archaeospora*, *Glomus*, *Entrophospora*, *Acaulospora*, *Scutellospora* y *Gigaspora* (Figura 01), INVAM (2006).

Es de notar que las micorrizas también han sido agrupadas, con base en la anatomía de las plantas colonizadas, en: ectomicorrizas, endomicorrizas (orquidioide, ericoide y arbuscular) y un grupo intermedio ectendomicorrizas, (Azcon-Aguilar y Barea 1980, citado por Cabrales, 2006), (Harley y Smith 1983, citado por Cabrales, 2006).

Actualmente ha tenido gran aceptación el sistema de clasificación descrito por (Schüßler, Schwarzott y Walker 2004, citado por Cabrales, 2006), donde agrupa a las micorrizas arbusculares dentro de la división Glomeromycota, que es clasificada tradicionalmente dentro de Zygomycota, pero que en las últimas décadas ha pasado a considerarse una división independiente y muy antigua dentro de los hongos.

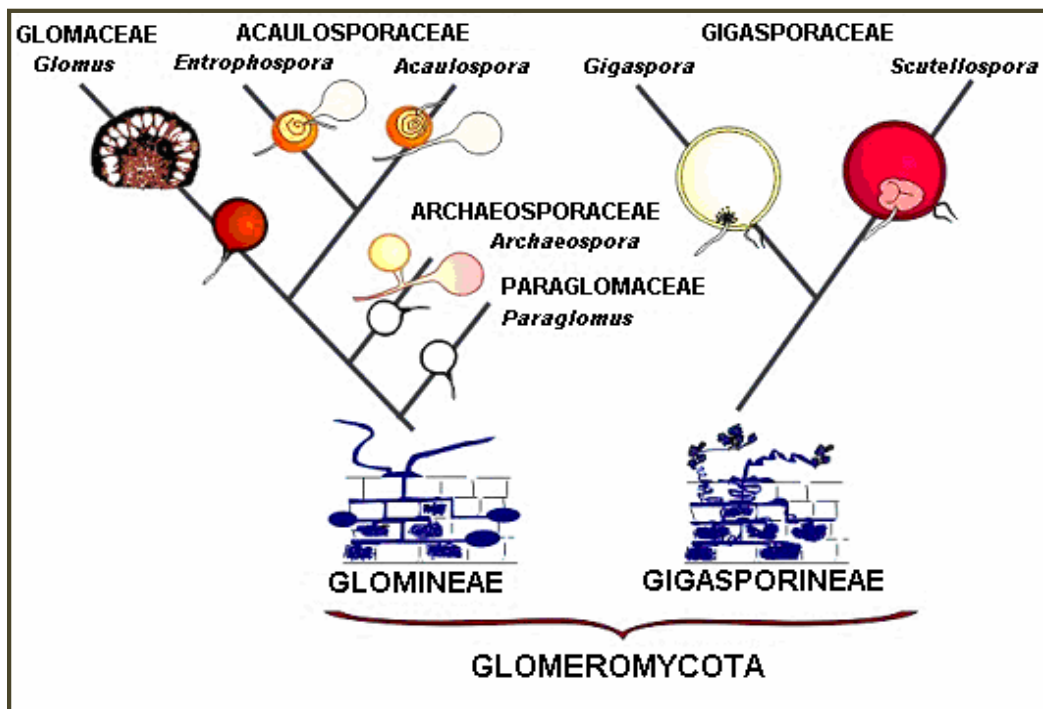


Figura 01. Clasificación taxonómica (Adaptado de INVAM, 2006)

Los estudios sobre su ADN indican que sus parientes actuales más cercanos están en las divisiones Basidiomycota y Ascomycota, de quienes se separaron hace 600-620 millones de años, antes de que Basidiomycota y Ascomycota se separaran entre sí. Su presencia en tierra está atestiguada en el registro fósil desde hace al menos 460 millones de años, durante el periodo Ordovícico, (Schüßler, Schwarzott and Walker, 2004, citado por Cabrales, 2006).

Los Glomeromycota se caracterizan por carecer de cualquier tipo de reproducción sexual y ser simbioses obligados de plantas terrestres. Con éstas forman las endomicorizas, un tipo de asociación micorrizógena que se caracteriza por la entrada de las hifas del hongo en el interior de las células de la raíz de la planta simbiote, donde forman vesículas

alimenticias y formaciones conocidas como arbúsculos, que se ramifican dicotómicamente. Trazas de estas estructuras se observan ya en los fósiles de las primeras plantas terrestres, hace 400 millones de años, por lo que se puede asegurar que esta asociación existió desde el momento en que éstas evolucionaron a partir de algas verdes marinas, y que fue un elemento imprescindible en el proceso de colonización del medio terrestre, antes de que evolucionaran unas raíces verdaderamente capaces de tomar los nutrientes del suelo, (Schüßler, Schwarzott and Walker ,2004,citado por Cabrales, 2006).

La división incluye una sola clase, Glomeromycetes, y cuatro órdenes: *Glomerales*, *Diversisporales*, *Paraglomerales* y *Archaeosporales*; ocho familias: Glomeraceae, Gigasporaceae, Acaulosporaceae, Pacisporaceae, Diversisporaceae, Paraglomeraceae, Geosiphonaceae, Archaeosporaceae; diez géneros: *Glomus*, *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Pacispora*, *Diversispora*, *Paraglomus*, *Geosiphon* y *Archaeospora* y 150 especies, (Schüßler, Schwarzott and Walker, 2004, citado por Cabrales, 2006).

Antiguamente, las clasificaciones se hacían exclusivamente en función de la morfología de sus esporas, a las que actualmente se han añadido las secuenciaciones de ácidos nucleicos. Además de su existencia obligada como simbioses, los Glomeromycota se diferencian de otros hongos en el gran tamaño de sus esporas (cada una con varios núcleos) y sus hifas no septadas (Figura 02), (Schüßler, Schwarzott and Walker, 2004, citado por Cabrales, 2006).

La micorriza arbuscular (MA), coloniza más del 80% de las especies de plantas con raíces y ha sido descrita en Briófitas, Pteridofitos, Gimnospermas y Angiospermas, (Guerrero, 1996, citado por Cabrales, 2006).

Las MA presentan un micelio aseptado y multinucleado, sus esporas en general de origen asexual (azigospora y clamidosporas), son heterocarióticas y se les considera biótrofos obligados, dada su necesidad de un hospedero para desarrollarse. El hongo presentan un sistema micelial, integrado por dos partes: micelio externo (coloniza el suelo y absorbe nutrientes) y el micelio interno (trasloca e intercambia sales minerales y carbohidratos con la planta), Guerrero (1996), Sánchez (1999), INVAM (2006), (citado por Cabrales, 2006).

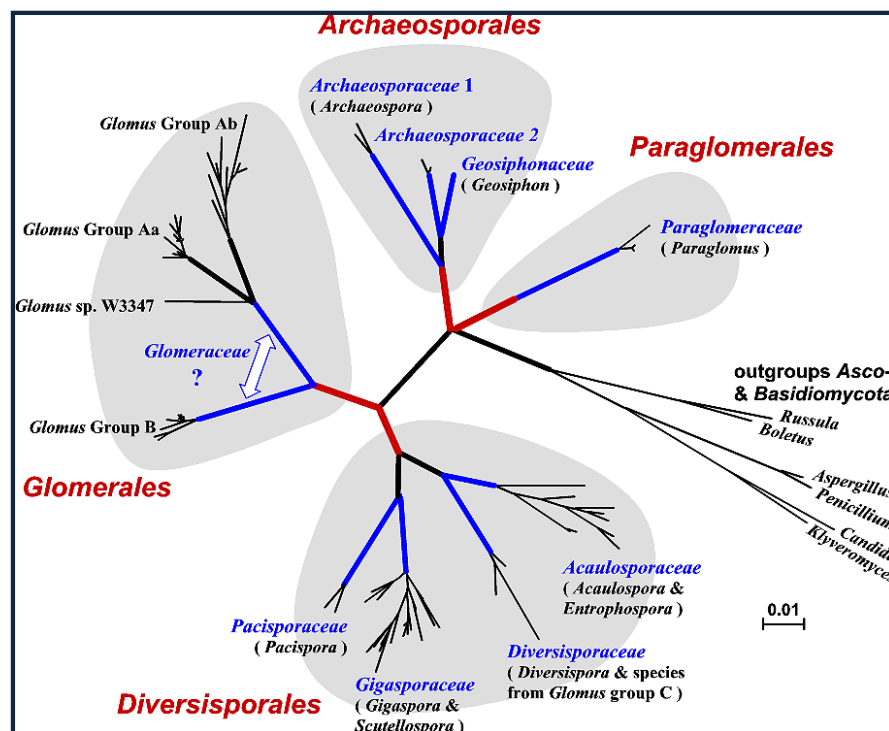


Figura 02. Clasificación taxonómica actual de los HMA (Tomado de AMF-Phylogeny.com, 2006).

3.3.4 Característica de la Asociación Micorriza Arbuscular.

La simbiosis micorrizica arbuscular es interesante desde el punto de vista morfológico, ecológico, taxonómico y fisiológico. Asimismo es importante por los efectos que tiene en la biología de la planta en procesos involucrados de nutrición, promoción del crecimiento, fisiología y otros beneficios directos e indirectos (Fitter, 1991, citado por Tapia, 2003).

Los hongos se consideran biótrofos obligados, ya que para su desarrollo y reproducción requieren del sistema radical del hospedante, de modo que pueden satisfacer sus requerimientos energéticos, cuya base son diferentes fuentes de carbono generadas por el proceso fotosintético de la planta. La importancia de los hongos micorrizicos arbusculares puede traducirse en los beneficios que por su simbiosis aporta a las plantas, con relación al mejor aprovechamiento de agua y nutrientes, especialmente el fósforo cuando este es limitado (Sieverding, 1991; Bethlenfalvay *et al.*, 1991, citado por Tapia, 2003).

Además, mantienen por mayor tiempo la funcionalidad de las raíces y el micelio externo (Extramatrix), generan una extensa red de hifas en el suelo que permite a la raíz mayor capacidad de exploración del volumen de suelo, por lo que contribuyen a que la zona de agotamiento aledaña a la raíz no sea limitativa en la disponibilidad de nutrientes y agua. De este modo, la fisiología de la simbiosis micorrizica provee a las plantas mejor capacidad de adaptación, establecimiento y crecimiento (Linderman, 1992, citado por Tapia, 2003).

Los HMA, favorecen en la estabilidad del suelo, las hifas permiten la agregación de las partículas del suelo, lo que evita la pérdida de este por agentes de erosión y sea menor (Abbott y Gazey, 1994, citado por Tapia, 2003). A su vez, la actividad de los hongos micorrizicos permite que las poblaciones microbianas se incrementen, participando como agentes reguladores de microbiótica benéfica y patogénica y, de este modo, influir directamente en la dinámica del carbono orgánico del suelo y de la fertilidad del mismo (Sieverding, 1991, citado por Tapia, 2003).

3.3.5 Morfología de la simbiosis Micorrizica Arbuscular.

Los hongos micorrizicos arbusculares no producen cambios visibles en la morfología de la raíz de sus hospedantes. Su presencia puede ser detectada mediante observaciones al microscopio óptico. En suelo, los hongos formadores de esta simbiosis presentan una extensa red de hifas que favorecen la absorción de nutrientes y agua (Bago, *et al.*, 1998; 2000, citado por Tapia, 2003), permitiendo que la raíz posea un mecanismo alterno que explore mayor volumen de suelo. Este micelio puede formar estructuras microscópicas que favorecen la propagación de los hongos a las cuales se les conoce como espores que pueden estar solitarias o agrupadas (Declerck *et al.*, 2000, citado por Tapia, 2003).

Una vez que la hifa del hongo penetra la raíz, esta crece a lo largo del tejido radical y llega a formar estructuras típicas de esa simbiosis tales como: 1) hifas intercelulares e intracelulares: 2) Arbusculo que facilitan el intercambio bidireccional de nutrientes entre hongo-planta, 3) Vesículas las cuales almacenan reservas para el hongo; 4) Enrollamiento hifales y 5)

Esporas simples o esporacarpicas en el suelo, pero algunas especies pueden esporular dentro de la raíz (Bago *et al.* 2000, citado por Tapia, 2003).

La íntima relación biotrófica hongo-planta, junto con la dependencia recíproca de los dos organismos para crecer y sobrevivir, permite sugerir que la micorriza forma y constituye parte integral de las plantas (Gianinazzi, 1991, citado por Tapia, 2003). Por lo que se considera que el establecimiento de la micorriza puede ser determinada por una secuencia de fenómenos de reconocimientos entre los simbiosistas, involucrando múltiples procesos (Giovannetti y Gianinazzi-Pearson, 1998, citado por Tapia, 2003).

3.3.6 Fisiología y Anatomía de la colonización Micorrizica Arbuscular.

Las estructuras que forman los hongos micorrizicos arbusculares son: esporas, arbusculos, vesículas e hifas. Las esporas son los propágulos más resistentes a condiciones adversas, por lo tanto su función es la propagación y preservación (Abbott y Robson, 1991, citado por Tapia, 2003). De esta manera, tras la emisión del tubo o tubos germinativos, el micelio del hongo crece hasta encontrar una raíz hospedera, donde forma una estructura similar a un apresorio y penetra entre las células epidérmicas o a través de los pelos radicales, después de la penetración las hifas producto de la germinación de las esporas, comienzan la colonización del tejido parenquimático de la raíz, generando al nivel de la corteza, arbusculos, vesículas. La colonización del hongo se extiende por

la epidermis y el parénquima cortical, nunca penetra los tejidos vasculares y meristemáticos (Harley y Smith, 1983, citado por Tapia, 2003).

Los arbusculos cumplen la función de intercambio de nutrientes, las vesículas de almacenamiento y las hifas extraradicales que se extienden dentro del suelo, incrementan el potencial del sistema radical (Linderman, 1992, citado por Tapia, 2003) y la función de exploración, absorción y translocación de nutrientes al hospedante, sin embargo las vesículas no se forman en los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora* (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1983, citado por Tapia, 2003).

Las esporas vivas presentes en el suelo pueden no funcionar como propágulos si ellas están inactivas, debido a condiciones del suelo o cuando están en su periodo natural de dormancia, el cual puede ayudarles a sobrevivir periodos largos bajo condiciones adversas. Los factores que pueden influir en la presencia y efectividad de las asociaciones micorrizicas son: propiedades de la raíz, factores edáficos y climáticos, perturbación del suelo y compatibilidad hospedante-hongo (Brundrett, 1991, citado por Tapia, 2003).

El desarrollo de la colonización en el interior de las células corticales, está acompañado por un crecimiento exterior y en forma radical, de las hifas extramatriciales, las cuales constituyen el sistema bioquímico de absorción de nutrimentos (Gianinazzi, 1991, citado por Tapia, 2003). Las hifas extramatriciales o extremas se desarrollan en el suelo y, en conjunto, forman un sistema complejo de redes de hifas responsables de la

absorción de nutrimentos, distribución de la asociación, formación de esporas, etc.

La micorriza arbuscular domina en comunidades vegetales de herbáceas y leñosas en suelos minerales a bajas latitudes (Read *et al.*, 1976, citado por Tapia, 2003), se encuentra distribuida desde el ártico hasta el trópico, en ambientes áridos, húmedos, comunidades estables y aun en ecosistemas altamente perturbados (Mosse *et al.*, 1981, citado por Tapia, 2003).

Se ha demostrado que las plantas con micorriza arbuscular incrementan la captación de nutrimentos minerales, especialmente aquellos que son poco móviles en el suelo, como P, Cu, Zn (Smith y Read, 1997, citado por Tapia, 2003). También se ha observado que las plantas micorrizadas son más tolerantes a fitopatógenos y condiciones ambientales adversas como salinidad del suelo (Hildebrandt *et al.*, 2001; Al-Karaki, 2000, citado por Tapia, 2003) sequía (Kalpunik y Douds, 2000, citado por Tapia, 2003), altas temperaturas y contaminación del suelo (Sylvia y Williams, 1992, citado por Tapia).

En el suelo se presentan plantas micorrizadas, el micelio externo del hongo contribuye a la estabilización de agregados, al mantener físicamente unidas a las partículas del suelo (Sutton y Sheppard, 1976; Tisdall, 1994; Bearden 2001, citado por Tapia, 2003).

La micorriza arbuscular se presenta en más especies vegetales que los demás tipos de micorriza y se ha observado más de 1000 géneros de plantas que representa alrededor de 200 familias. Se calcula que cerca

del 90% de las 300,000 especies de plantas vasculares en el mundo forman micorrizas arbusculares (Marks, 1991; Smith y Read, 1997, citado por Tapia, 2003), existe poca evidencia de especialidad entre el hongo y la planta aun cuando se ha demostrado especificidad ecológica y compatibilidad funcional (Molina *et al.*, Trappe, 1992; Clapp *et al.*, 1996, citado por Tapia, 2003).

3.3.7 Factores bióticos y abióticos que afectan a las micorrizas

Según Guerrero (1996), citado por Cabrales, (2006), las micorrizas pueden verse afectada por factores bióticos y abióticos, entre ellos los más sobresalientes:

Factores bióticos: Tipo de comunidad vegetal, condiciones fisiológicas de la planta hospedera, interacciones con otros organismos del suelo, prácticas antrópicas (deforestación, sistemas de cultivo, aplicación de agroquímicos, etc.).

Factores abióticos: Propiedades físico-químicas del suelo, variaciones climáticas.

Entre las propiedades físico-químicas del suelo, el pH parece ser uno de los factores más influyentes sobre el comportamiento de las micorrizas y la composición de especies de hongos micorrizógenos. Las MA tienen amplia capacidad de adaptación a condiciones de pH, estos se han registrado desde valores de 2.7 a 9.2. En suelos ácidos, el aluminio es un factor limitante de la asociación, aun así se han encontrado algunas especies que soportan esa condición; en suelos salinos la presencia de sodio y cloro

pueden reducir la germinación de las esporas, (Sieverding, 1991), Barea y Jeffries (1995); Varma (1995), (citado por Cabrales, 2006).

En relación con el clima, trabajos realizados demuestran que la abundancia de esporas de MA en el suelo, así como el porcentaje de colonización micorrícica en la raíz, se ven afectados por el patrón estacional de lluvias y por el régimen hídrico del suelo. Dada la naturaleza aerobia de estos micosimbiontes en ecosistemas terrestres, la presencia de excesos de humedad restringe el establecimiento de esta simbiosis y los efectos benéficos de esta asociación. Igualmente se ha planteado que un déficit en el suministro de agua estimula la producción de esporas de MA, (Hodson y Guerrero 1987, citado por Cabrales, 2006), (Sieverding 1991, citado por Cabrales, 2006). Otras condiciones climáticas, como temperatura e intensidad lumínica altas, así como fotoperiodos de 12 horas ó más, conducen generalmente a incrementos en la colonización de la raíz y en la esporulación de los hongos micorrizógenos, (Daniels 1984, citado por Cabrales, 2006).

Con respecto a la textura del suelo, se han encontrado porcentajes de colonización más bajos en suelos arenosos. En general, la compactación de suelo dificulta el crecimiento del micelio de las MA, (Sieverding 1991, citado por Cabrales, 2006).

El nivel de fósforo, el uso y tipo de fertilizante afectan grandemente la colonización micorrizica, se ha establecido que a baja o moderada fertilidad del suelo, se mejora la respuesta de la planta. Asimismo las aplicaciones pesadas de fertilizantes sean de nitrógeno o fósforo, a menudo perjudican

la colonización micorrizica aunque en campo la respuesta es impredecible (Azcon y Barea, 1985, citado por Tapia, 2003). La colonización radicular se reduce a muy altos o muy bajos niveles de fósforo disponible (Trimble y Knowles, 1995; Thomson *et al.*, 1991; Daft, 1991; Marschner y Dell, 1994, citado por Tapia, 2003).

3.3.8 Propagación de las esporas de los HMA para la clasificación taxonómica

La principal estructura que estos hongos que poseen para propagarse y con las que pueden estudiarse taxonómicamente son las esporas (Varela y Estrada-Torres, 1997, citado por Tapia, 2003). Estas estructuras, hasta la fecha no se han logrado propagar y multiplicar en medios de cultivos convencionales de laboratorio (Sylvia y Jasfer, 1994, citado por Tapia, 2003).

Los que los hongos que forman micorriza arbuscular son biótrosos obligados que habitan en el suelo, para poderlos identificar adecuadamente, es necesario propagarlos durante 4 – 6 meses en macetas con una planta hospedera apropiada. Las esporas recolectadas directamente de suelo de campo frecuentemente están parasitadas y no es posible obtener suficiente información confiable con relación a la variabilidad de sus características (Varela y Estrada-Torres, 1997, citado por Tapia, 2003).

Es importante señalar que no todas las especies presentes en la muestra de campo logran propagarse en maceta. Por otro lado, a partir de las

macetas de propagación se obtiene esporas de diferentes especies, por lo que para hacer una identificación confiable, en muchos casos es necesario hacer cultivos mono específicos a partir de una sola espora (Sylvia y Jasfer, 1994, citado por Tapia, 2003).

Una vez que se ha propagado las esporas en maceta, se separan del suelo por la técnica de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1993). En ocasiones si la muestra tamizada contiene gran cantidad de materia orgánica y partículas de suelo, puede aplicarse centrifugación utilizando un gradiente de sacarosa (20 y 60%) con el objetivo de eliminar partículas de materia orgánica, que impiden la separación de las esporas. Después de la centrifugación, las esporas deben lavarse abundantemente con agua para evitar su plasmólisis.

La suspensión de esporas obtenidas se coloca con agua en una caja de petri o bien se filtra a través de papel filtro y este se coloca sobre una caja de petri. Las esporas se observan en estéreo microscopio y se separan, en grupos discretos de acuerdo con su tamaño, forma, color, hifa de sostén y ornamentación.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Área de estudio y localización de los sitios de muestreo

El presente estudio se realizó en un área de 3,15 ha de la Estación Experimental “El Choclino”, distrito la Banda de Shilcayo, provincia y Región de San Martín; geográficamente está ubicada a 06° 28’ 37.3” latitud sur y a 76° 19’ 54.6” longitud oeste (figura 03). El rango de altitud va desde 500 a 530 msnm., con un área de 8.4 ha y un perímetro de 1,432 m. El relieve del área es de pendiente ligera a 3% (2 ha); pendiente moderada a 8% (3.5 ha); y pendiente marcada a 25% (2.90 ha). Este fundo corresponde a un bosque secundario de 25 años con suelos de reacción ácida. Para la colecta de muestras de suelos y raíces, se realizó dentro de los sistemas bajo bosque (BMS) y sistema tradicional (ST), ocupando una superficie aproximada de 1,65 ha y 1.5 ha respectivamente.

4.2 Sistemas de producción

El BMS, durante la instalación de este sistema solamente se realizó las actividades de rozo y tumba selectiva de arbustos y arboles hasta lograr un aproximado de 50% de sombra, condición adecuada para el cultivo de cacao. Además de contar con especies maderables también fueron introducidos especies de lento crecimiento y alto valor económico: tornillo (*Cedrelinga cateaniformis*), y especies forestales de rápido crecimiento como capirona (*Calicophyllum spruceanum*) y paliperro (*Vitex pseudolia*), utilizando distanciamientos de 12 X 12 m entre plantas de una misma especie; cuya distribución de una especie forestal en el sistema esta dado aprovechando los intermedios dejados por otras especies forestales. Es una forma de uso de la tierra en la cual se combinan especies arbóreas leñosas con cultivos agrícolas y

animales, de forma simultánea o en secuencia temporal y que interactúan económica y ecológicamente. Un aspecto que determina la susceptibilidad de este sistema es la presencia de árboles, que tienen la capacidad de tomar nutrientes de capas más profundas del suelo, reciclándose eficientemente y proporcionando mayor cobertura y conservación de los recursos edáficos (Figura 04 - A).

El ST, la secuencia de actividades de instalación de cultivos agrícolas en el sistema tradicional es semejante a lo que realiza el agricultor de la región San Martín, simulando agricultura migratoria, tratando en lo posible de obtener ingresos económicos a corto plazo, sin tener en cuenta la sostenibilidad del sistema. De ahí que se tuvo como primeras actividades, al rozo, tumba, picacheo y quema; para posteriormente realizar la instalación de cultivos que permitan obtener ingresos económicos a corto plazo como el plátano, maíz y frejol regional, para finalmente establecer el cacao como componente principal (Figura 04 - B).



Figura 03. Vista satelital de la estación experimental el Chocloino y área de muestreo de los dos sistemas de producción.



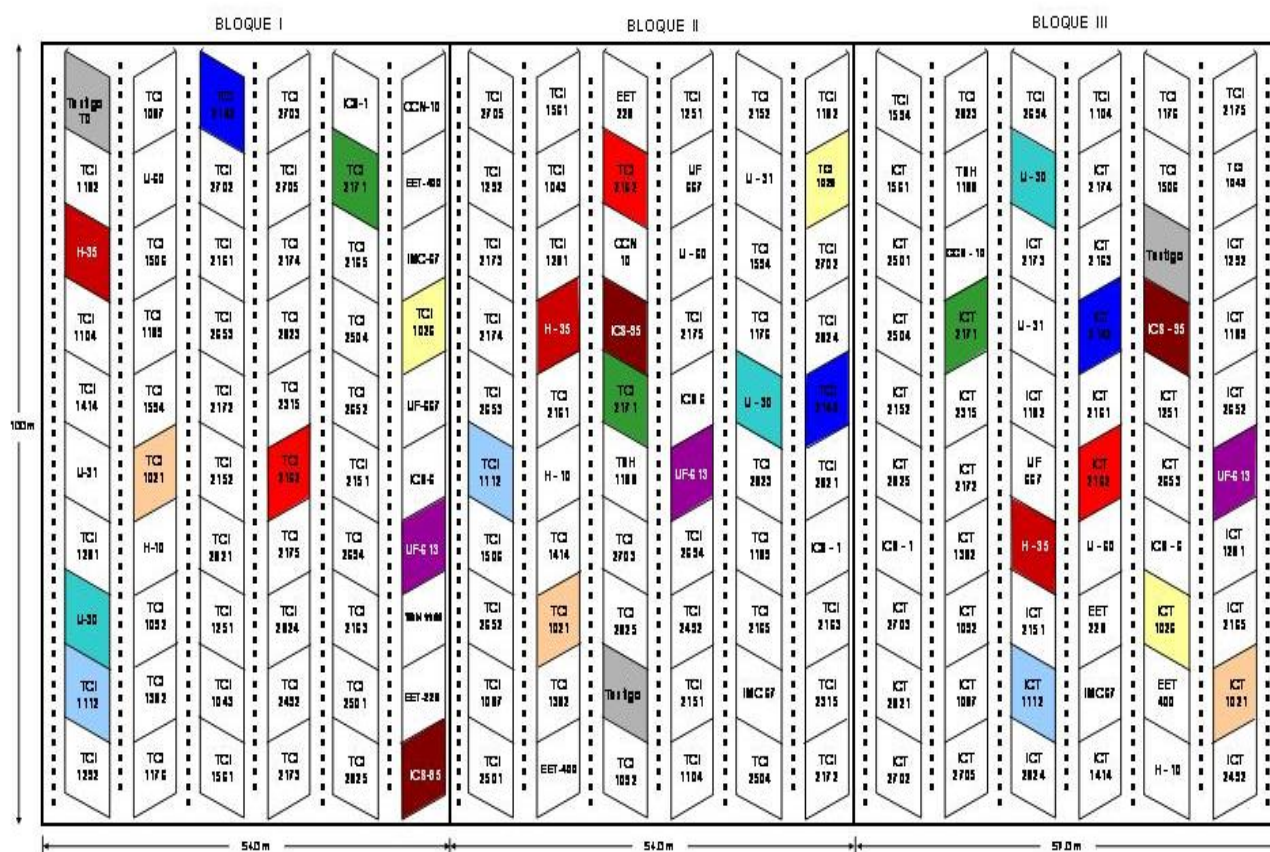
Figura 04. Vista panorámica de los sistemas de producción de cacao. A. Sistema de Bajo Bosque (BMS) y B. Sistema Tradicional (TS) ubicado en la estación experimental el Chocloino.

4.3 Genotipos Promisorios

Durante el periodo 2002-2003, el ICT auspiciado por el Proyecto INCAGRO realizó una selección de 600 plantas matrices de cacao en 127 parcelas de agricultores de las Provincias de Mariscal Cáceres, Huallaga, Bellavista, Picota y Tocache (Departamento de San Martín, Perú). La selección se realizó a través de observación de características de productividad (86%) y/o resistencia a plagas (14%). Se tomaron muestras de hojas jóvenes de estas plantas para determinar la variabilidad genética a través del análisis molecular. Estos análisis fueron realizados en el Laboratorio del USDA-ARS. Beltsville. En base a estos resultados, se seleccionaron 44 genotipos con características de: productividad y resistencia a plagas, con fines de conservación y evaluación, que actualmente se encuentran instalas en la EE-El Choclino (Anexo 01).

Con fines de investigación, se seleccionaron 10 genotipos y un híbrido, en donde se están evaluando diversos factores que interactúan (Clima, suelo, fisiología, biología, productividad); así mismo, se realizan anualmente análisis químico, físico y biológico del suelo.

Para este estudio, de los diez genotipos seleccionados, cinco pertenecen a la colección ICT (ICT-2171, ICT-1026, ICT-2142, ICT-2162, ICT-1112); tres internacionales (CCN-51, ICS-95, UF-613); dos amazónicos (H-35, U-30); y un híbrido (Gráfico 01).



- 10 Genotipos Internacionales
- 18 Genotipos ICT Matriz I (Juanjui)
- 26 Genotipos ICT Matriz II (Tocache)
- 03 Genotipos de la Colección Hualлага
- 02 Genotipos de la Colección Ucayali
- 01 Genotipo testigo

4.4 Propiedades físicas y químicas del suelo

Según los análisis físicos y químicos del suelo que fueron realizados en el laboratorio de suelos del Instituto de Cultivos Tropicales (ICT). Reportan que los suelos de los sistemas de producción de cacao, pertenecen a una clase textural arcillosa.

La Capacidad de Intercambio de Catiónico (CIC), se encuentra en un rango de pobre a medio presentando valores de 12.15 - 37.73 y 11.07 – 13.61 meq/100g en el BMS y ST respectivamente. La materia orgánica (MO) en concentración medio en ambos sistemas, el pH en los dos sistemas de producción oscila entre ácido a neutro 4.12 – 7.22 en el BMS, ácido a ligeramente ácido 4.12 – 6.10 en el ST, originando la inhibición de algunos nutrientes para la planta.

La conductibilidad eléctrica es baja en ambos sistemas. Los niveles de fósforo presentan valores de 0.79 a 2.68 ppm en el BMS, y de 0.62 – 6.17 ppm en el ST, indicando un suelo deficiente en fósforo.

El potasio se encuentra en niveles muy bajos, presentando valores de 29.33 y 38.33 en el ST y BMS respectivamente. Así mismo; el calcio presenta una distribución de cationes en bajas concentraciones.

Cuadro 01. Propiedades físicas y químicas de suelos de cacao en BMS y ST en una escala máxima y mínima (Octubre- 2008)

Análisis químico y físico	Sistema de producción	
	Sistema bajo bosque	Sistema tradicional
CIC (meq/100 g)	12.15 - 37.73	11.07 - 13.61
M.O (%)	2.56 - 5.10	3.15 - 5.14
pH	4.76 - 7.22	4.12 - 6.10
C.E	0.11 - 0.43	0.18 - 0.26
P (ppm)	0.79 - 2.68	0.63 - 6.17
K (ppm)	38.33 - 83.00	29.33 - 96.00
Ca (meq/100 g)	10.41 - 34.95	10.13 - 12.43
Textura	Arcilloso	Arcilloso

Fuente: Laboratorio de suelos del Instituto de Cultivos Tropicales. (2008)

4.5 Muestreo de suelos y raíces

Se colectaron muestras de suelos y raíces de 11 genotipos de cacao, ubicados dentro de los sistemas bajo bosque (BMS) y sistema tradicional (ST). El muestreo se realizó en dos épocas: en marzo del 2009 (época húmeda) y en noviembre del 2009 (época seca), donde se presentó una mayor y menor precipitación pluvial respectivamente (Gráfico 02).

Para el muestreo, se seleccionaron tres plantas por parcela de cada bloque de los sistemas en estudio, sobre cada planta de cacao fueron colectadas cuatro sub. muestras a una profundidad de 0 a 20 cm a la proyección de la altura de la copa de la planta, en las direcciones norte, sur, este y oeste respectivamente; aproximadamente se colectó 1 Kg. de muestra entre suelo y raíces, estas fueron llevadas al Laboratorio de Fitopatología para homogenizar y formar una muestra compuesta para su respectivo estudio (Figura 05).

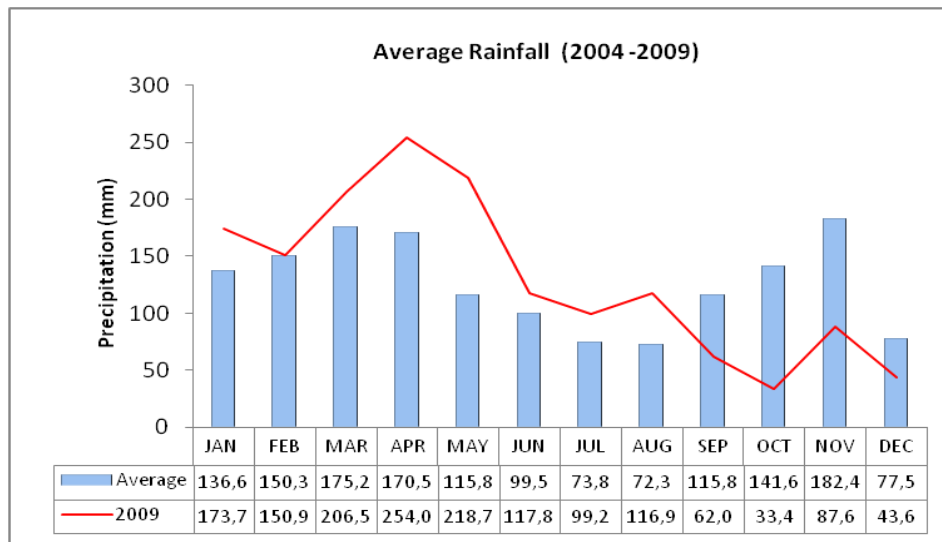


Gráfico 02. Distribución de la precipitación durante el periodo del estudio.
Fuente (ICT)

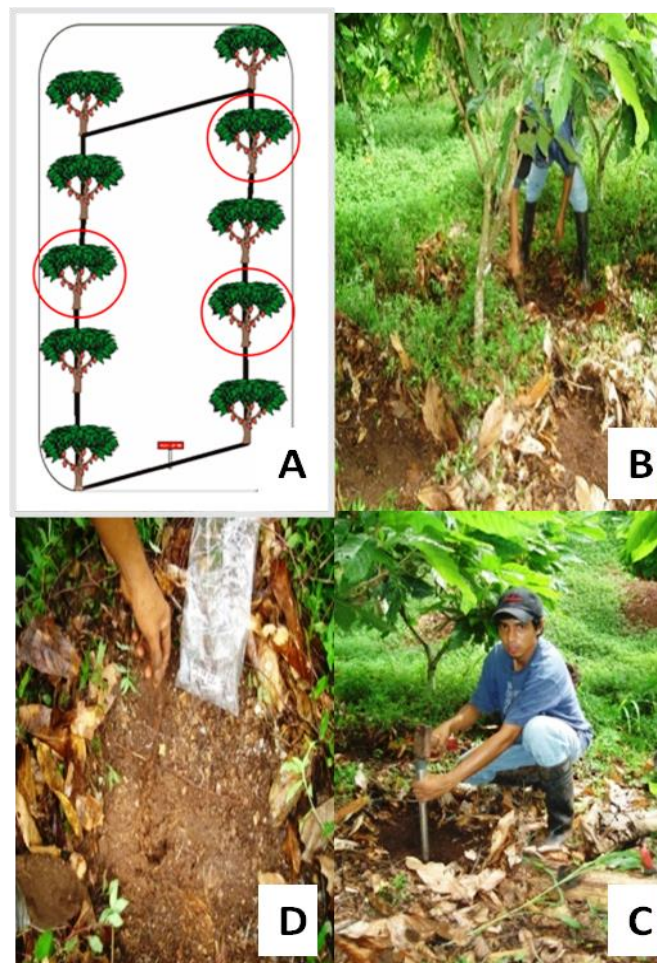


Figura 05. Muestreo de suelo y raíces: A. Selección de las unidades experimentales. B. Limpieza y ubicación de los cuatro puntos de muestreo a la proyección de la copa del árbol. C. Toma de muestras de suelo. D. Muestra de raíces de cacao.

4.6 Colonización micorrizica

Las raíces fueron lavadas con agua corriente sobre un tamiz, después fueron colocadas en tubos de 50 ml, a estos se añadió una solución FAA (13 ml de formaldehído 40%, 5 ml de ácido acético glacial y 200 cc de etanol 50%), para su conservación hasta su uso posterior. Para la evaluación de las muestras, las raíces fueron lavadas con agua corriente para eliminar el FAA, fueron cortadas aproximadamente 1 cm de longitud. De acuerdo con la técnica de Phillips y Hayman (1970) modificada por Kormanik *et al.*, (1978). estas raíces fueron colocadas en tubos de 50 ml. conteniendo una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10% hasta cubrir la muestra, después fueron colocadas en baño maría a 90°C durante 1 hora con la finalidad de remover el contenido citoplasmático y clarificar el tejido cortical, después se lavo tres veces con agua corriente. Las raíces fueron sumergidas en ácido clorhídrico (HCl) al 1%, luego fue eliminado el HCl y se agregó trypan blue al 0.05% hasta cubrir las raíces, posteriormente estas fueron colocadas en baño maría a 90°C durante 30 minutos, finalmente se puso a conservar en lacto glicerol hasta su evaluación (Anexo N° 02).

4.7 Cuantificación de esporas

La extracción de esporas; se realizó según el método de tamizado en húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963). Las muestras de suelo fueron homogenizadas, luego se depositó 100g de suelo en un recipiente conteniendo un litro de agua, se agitó por 5 minutos, luego se dejó en reposo por 3 minutos, posteriormente el sobrenadante se paso por tamices con aberturas de 425 y 45 micras. El material colectado en el tamiz de 45 micras, fue transferido a una tubo

de centrifuga con la ayuda de una pizeta conteniendo agua y se centrifugó a 2500 rpm por 5 minutos. El sobrenadante se eliminó cuidadosamente, luego se añadió sacarosa al 50%, nuevamente se centrifugo a 1600 rpm durante tres minutos , el sobrenadante se paso por tamiz de 38 micras, se lavó con agua corriente para eliminar la sacarosa, se colectó con agua destilada, en vasos de precipitación, y posteriormente fue conservado a 4°C. Los resultados fueron expresados en números de esporas viables por 100 gramos de suelo (100g s.) (Anexo N° 1).

Para la cuantificación de esporas se tomo 1 ml por suspensión de esporas, y con la ayuda de un microscopio de aumento (100x), se realizó tres conteos por muestra para obtener un estimativo del número total de esporas viables en 100 g de suelo, por genotipo de cacao. De cada conteo respectivo el contenido se colecto en un vaso de precipitación, para luego ser depositado en tubos de ensayo, se rotularon y se guardaron a 4°C, para su posterior identificación.

Para expresar el número de esporas en suelo seco se determino el contenido de humedad de la muestra. El peso seco se obtuvo de la diferencia del peso inicial (Peso húmedo) y del peso final (Peso seco), para determinar el peso seco se coloco en la estufa a 60°C hasta obtener un peso constante, y expresarlo en número de esporas en 100 g de suelo seco.

4.8 Identificación de los hongos micorrizicos arbusculares HMA

Para la identificación de los HMA, se tomo en cuenta las características morfológicas:

- a) Tamaño: Diámetro medido de la espora.
- b) Color: Hialino, amarillo, rojo, negro, miel, rosado y otros colores.
- c) Forma: Redonda, esférica, ovalada, irregular, elipsoide, subglobosa u otras.
- d) Estructura citoplasmática: Vacuolada o reticulada.
- e) Estructura superficial: Lisa, áspera, ornamentada, ondulada, escamosa, etc.
- f) Número de paredes.
- g) Tipo de hifa de soporte*: Vertical o lateral
- h) Número de hifa
- i) Reacción de Melzer: Positivo o negativo.

* Sin hifa de soporte no es posible realizar la identificación de una espora a nivel de género, mucho menos a nivel especie.

Las esporas fueron separados en grupos de acuerdo a su color y tamaño, preparándose laminillas con 20 a 25 esporas utilizando lactoglicerol, con reactivo de melzer, como líquidos de montaje, aplicándose una ligera presión sobre cada uno de los cubreobjetos para romper levemente las esporas y posteriormente poder observar la estructura de la pared, se seco a temperatura ambiente durante 72 horas, después de este tiempo, se procedió a evaluar las características morfológicas y medir las esporas con la ayuda de un ocular micrométrico.

4.9 Diseño experimental y análisis estadístico

Los factores en estudio se encuentran distribuidos bajo un diseño de Bloques Completo Randomizado (DBCR) con tres repeticiones, los mismos fueron ajustados a un arreglo factorial de 2 x11, los factores y sus niveles de estudio fueron: Sistema de producción (sistema bajo bosque y sistema tradicional); y Genotipos de cacao (ICT-2142, CCN-51, ICT-1112, ICT-1026, ICT-2162, ICT-2171, ICS-95, UF-613, U-30, H-35, Testigo.)

Para realizar el análisis de varianza, los datos expresados en porcentaje (% Colonización) y datos cuantitativos (N° de esporas) fueron transformados a arco seno \sqrt{X} y Log (X) respectivamente, micorrizica. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey, con un nivel de significancia de 0.01% y 0.05%. Para este análisis se utilizó el programa estadístico InfoStat/Profesional versión 2.0.

4.10 Parámetros evaluados

4.10.1 Porcentaje de colonización

Para determinar la colonización micorrizica se siguió el protocolo de la técnica sistemática de porta objetos (McGonigle *et al.* 1990, citado por Da Silva, 2004).

Sobre una lamina porta objetos se puso 10 segmentos de raíces aproximadamente de 1 cm. en forma vertical, cuidadosamente amasados, con la finalidad de facilitar la observación del tejido interno,

sobre estas raíces se adicionó gotas de lactoglicerol. Las observaciones fueron realizadas a 100X de aumento en un microscopio, donde se registraron la presencia o ausencia de micelios del hongo y expresadas en porcentaje. (Figura 06)

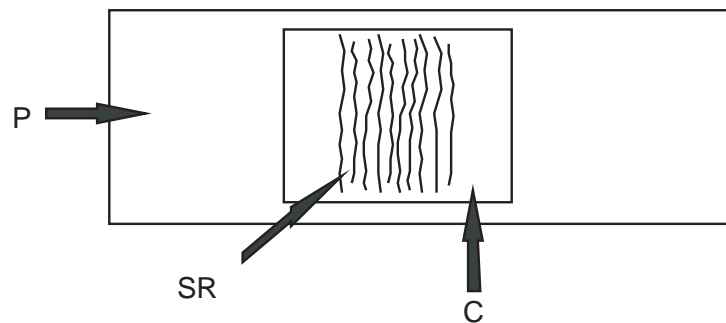


Figura 06.Montaje de raíces para la evaluación del porcentaje de colonización micorrízica: P, portaobjetos; C, cubreobjetos; y SR, Segmentos de raíz.

4.10.2 Número de esporas viables

Para determinar el número de esporas viables /100 g de suelo seco, se empleo la siguiente ecuación:

$$\text{Número de esporas/100 g de ss.} = \frac{\boxed{\text{E/ 1cc x MT}}}{\boxed{\text{PSS}}} \times 100$$

Donde:

E: Número de esporas lecturas

MT: Muestra total de 15 cc

PSS: Peso del suelo seco (diferencia entre 100 g de suelo y el porcentaje de humedad).

4.10.3 Identificación de principales géneros de hongos micorrizicos arbusculares.

La identificación de los géneros se realizó según las características morfológicas descritas anteriormente, mediante las descripciones de Schenck & Pérez (1987), del Internacional Cultura Collection of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM) y por el catálogo ilustrado Micorrizas arbusculares de la Amazonia Colombiana (Peña *et al.*, 2006).

V. RESULTADOS

5.1 Colonización micorrizica

5.1.1 Aspectos Anatómicos de la colonización micorrizica en cacao

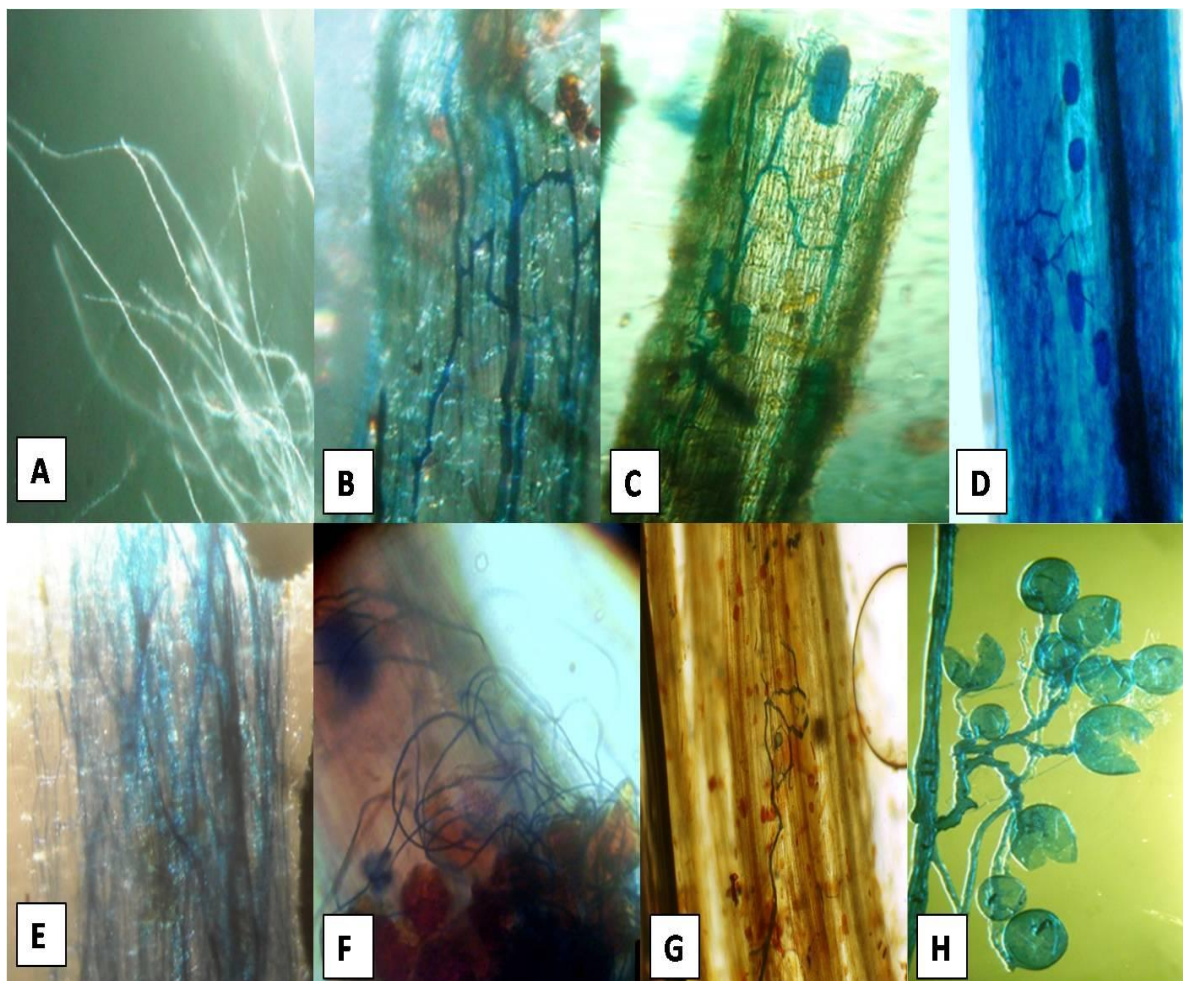


Figura 07. Estructuras de los Hongos micorrizicos arbusculares (HMA) **A)** Micelio de los HMA, sin tinción. **B)** Detalle de las hifas intrarradicales, **C)** y **D)** Formación de vesículas, **E)** Hifas tipo Arum y **F)** Hifas tipo Paris colonizadas en raíces de cacao **G)** Formación de esporas en la superficie de raíces. **H)** estructura de una hifa con reproducción de esporas.

5.1.2 Porcentaje de colonización micorrizica

Cuadro 02. Análisis de varianza de la colonización micorrizica en raíces de genotipos promisorios de cacao bajos los sistemas BMS y ST en la época húmeda.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Bloque	457.94	2	228.97	3.35	0.0452	N.S.
Sistema	2862.23	1	2862.23	41.87	<0.0001	**
Genotipo	1354.73	10	135.47	1.98	0.0618	N.S.
Sistema*Genotipo	571.85	10	57.19	0.84	0.5971	N.S.
Error	2734.69	40	68.37			
Total	7981.45	63				

$R^2 = 66.00 \%$

$C.V. = 5.48 \%$

Cuadro 03. Análisis de varianza de la colonización micorrizica en raíces de genotipos promisorios de cacao bajos los sistemas BMS y ST en la época seca.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Bloque	269.14	2	134.57	1.68	0.1981	N.S.
Sistema	782.88	1	782.88	9.79	0.0032	**
Genotipo	906.18	10	90.62	1.13	0.3615	N.S.
Sistema*Genotipo	1500.43	10	150.04	1.88	0.0763	N.S.
Error	3358.34	42	79.96			
Total	6816.96	65				

$R^2 = 51.00 \%$

$C.V. = 17.09 \%$

Cuadro 04. Porcentaje promedio de colonización micorrizica en raíces de genotipos promisorios de cacao en dos sistemas de producción bajo dos épocas de muestreo.

SISTEMA	EPOCA (% colonización micorrizica)			
	HUMEDA		SECA	
BMS	82.04	a	56.46	b
ST	65.25	b	65.76	a

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.01$)

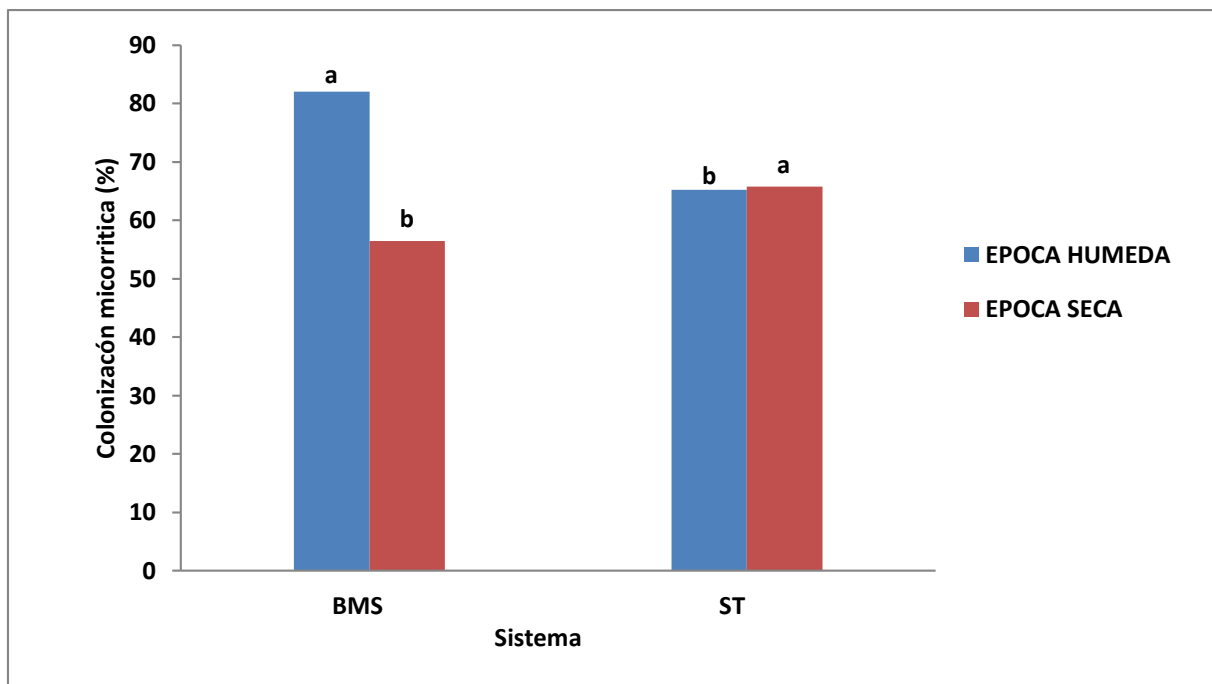


Gráfico 03. Colonización micorrizica en raíces de genotipos promisorios de cacao en dos sistemas de producción bajo dos épocas de muestreo. Las barras con letras distintas indican diferencia estadística significativa según la prueba de Tukey al 0.01%.

Cuadro 05. Porcentaje promedio de colonización micorrizica en diferentes genotipos promisorios de cacao bajo dos épocas de muestreo.

Genotipo	ÉPOCA (% colonización micorrizica)			
	HÚMEDA		SECA	
CCN - 51	84.45	a	53.89	a
H - 35	72.78	a	61.67	a
ICS - 95	75.55	a	56.67	a
TCI - 1026	68.89	a	50	a
TCI - 1112	80.67	a	65.56	a
TCI - 2142	70	a	64.44	a
TCI - 2162	72.22	a	65.56	a
TCI - 2171	72	a	61.67	a
Hibrido	73.89	a	65.56	a
U - 30	75.56	a	67.22	a
UF - 613	62.22	a	60	a

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.01$)

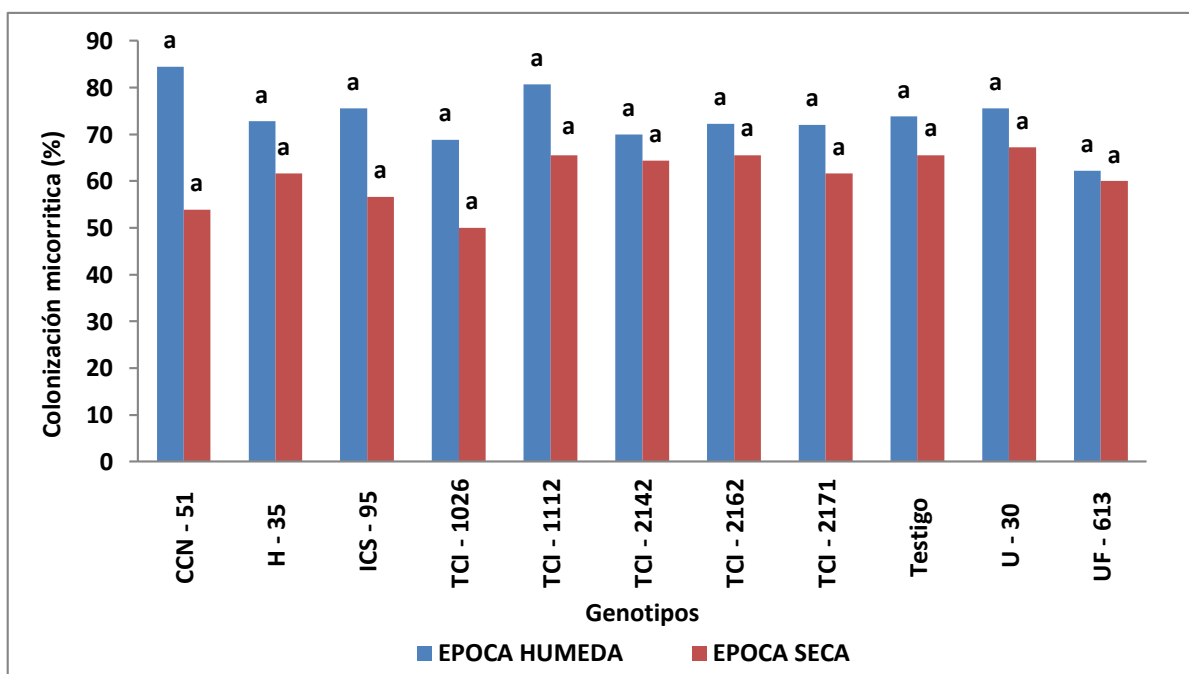


Gráfico 04. Colonización micorrizica en raíces de genotipos de cacao bajo dos épocas de muestreo. Las barras con la misma letra indican que no existe diferencia estadística significativa según la prueba de Tukey al 0.01%.

5.2 Número de esporas viables

Cuadro 06. Análisis de varianza de la población de los HMA en la rizosfera de genotipos promisorios de cacao (*Theobroma cacao*) bajo dos sistemas de producción en la época húmeda.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Bloque	0.84	2	0.42	9.98	0.0003	**
Sistemas	0.29	1	0.29	6.83	0.0124	*
Genotipos	0.98	10	0.1	2.33	0.0273	*
Sistema*Genotipos	0.27	10	0.03	0.63	0.7781	N.S.
Error	1.76	42	0.04			
Total	4.13	65				

$R^2 = 57.00 \%$

$C.V. = 5.48 \%$

Cuadro 07. Análisis de varianza de la población de los HMA en la rizósfera de genotipos promisorios de cacao (*Theobroma cacao*) bajo dos sistemas de producción en la época seca.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Bloque	0.23	2	0.11	1.46	0.2441	N.S.
Sistemas	0.8	1	0.8	10.3	0.0026	**
Genotipos	1.62	10	0.16	2.07	0.0492	N.S.
Sistemas*Genotipos	0.54	10	0.05	0.69	0.7241	N.S.
Error	3.28	42	0.08			
Total	6.46	65				

$R^2 = 49.00 \%$

$C.V. = 10.66 \%$

Cuadro 08. Número promedio de esporas asociados a la rizósfera de genotipos promisorios de cacao en dos sistemas de producción bajo dos épocas de muestreo.

SISTEMA	EPOCA (N° esporas /100 cc suelo)			
	HÚMEDA		SECA	
BMS	7164.24	a	683.04	a
TMS	5646.49	b	370.59	b

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

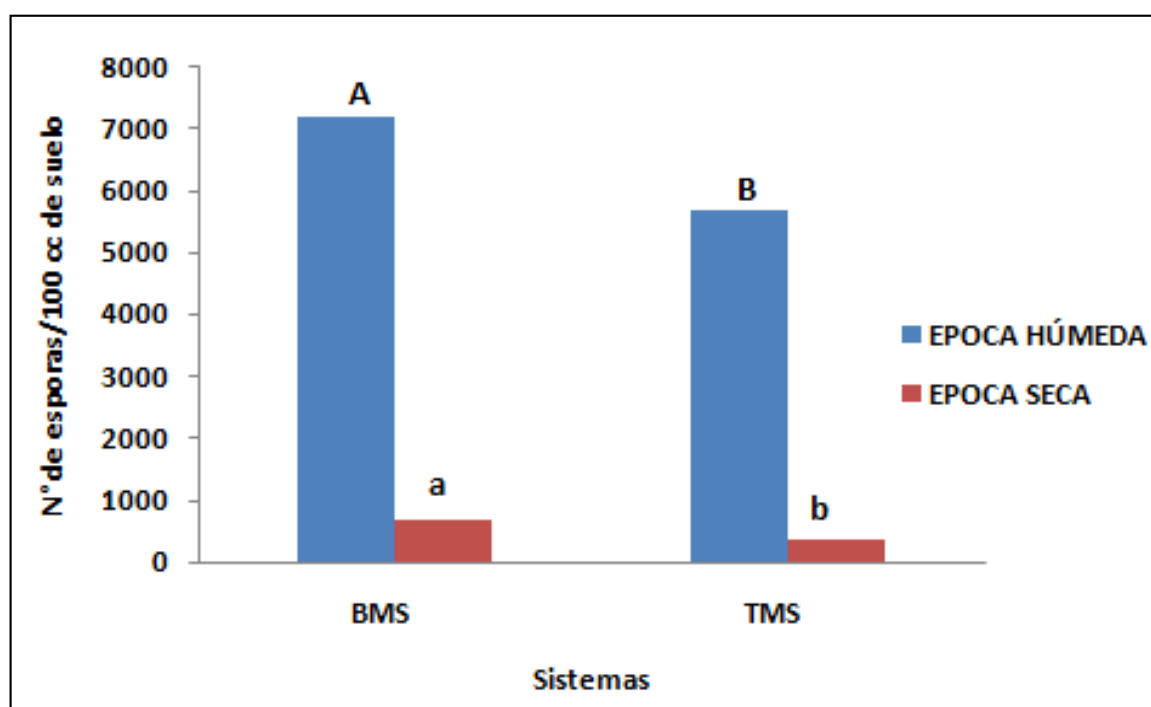


Gráfico 05. Prueba de Tukey al 0.05% para el número de esporas asociados a la rizósfera de genotipos promisorios de cacao en dos sistemas de producción bajo dos épocas de muestreo.

Cuadro 09. Número promedio de esporas asociados a la rizósfera de genotipos promisorios de cacao bajo dos épocas.

GENOTIPOS	EPOCA (N° esporas /100 g de suelo)			
	HUMEDA		SECA	
CCN-51	5200.99	ab	315.51	a
H-35	5373.81	ab	335.91	a
Hibrido	5623.31	ab	546.14	a
ICS-95	6342	ab	331.05	a
ICT - 2142	8535.54	ab	718.63	a
ICT-1026	3573.18	b	407.58	a
ICT-1112	4883.1	ab	500.02	a
ICT-2162	5666.75	ab	727.77	a
ICT-2171	7987.9	ab	464.03	a
U-30	10747.85	a	812.09	a
UF-613	6524.56	ab	636.24	a

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

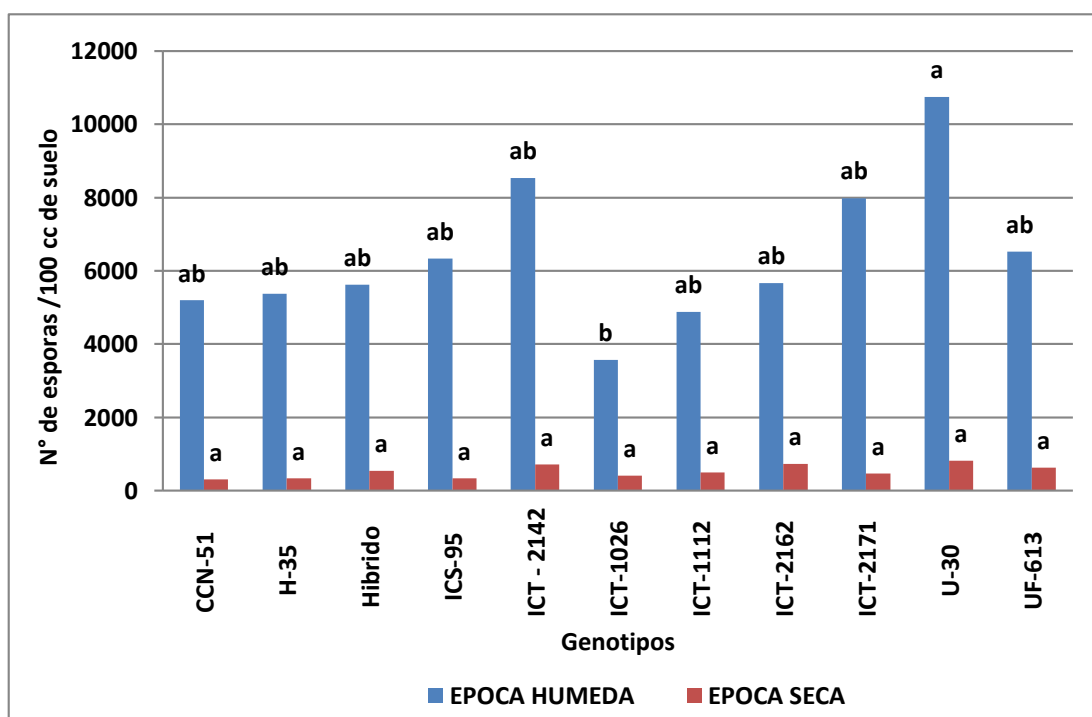


Gráfico 06. Prueba de Tukey al 0.05% para el número de esporas de los HMA asociados a genotipos promisorios de cacao bajo dos épocas de muestreo.

5.3 Identificación de Hongos micorrizicos arbusculares

Cuadro 10. Clasificación de Hongos micorrizicos arbusculares de acuerdo a su coloración de esporas.

Sistemas de Producción	Color de esporas (N° esporas viables)			Total Esporas
	Negras	Marrones	Blancas	
BMS	39.33	44.00	32.44	115.78
ST	32.44	16.67	21.11	71.56
Géneros	<i>Glomus</i> sp. ; <i>Acaulospora</i> sp.	<i>Glomus</i> sp. ; <i>Acaulospora</i> sp.	<i>Acaulospora</i> sp.	<i>Glomus</i> sp. ; <i>Acaulospora</i> sp.

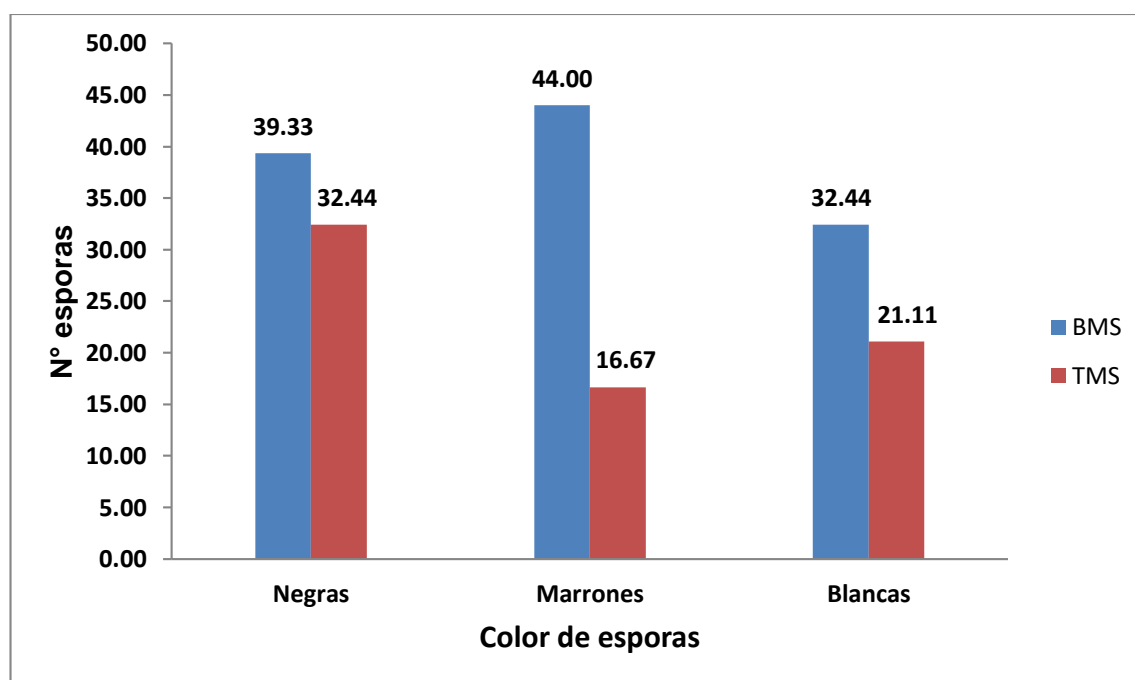


Gráfico 07. Número de esporas de los HMA de acuerdo a su coloración asociados a genotipos promisorios de cacao bajo dos sistemas de producción.

Cuadro 11. Morfotipos encontrados en el sistema bajo bosque y sistema tradicional.

Sistema de producción	Género	Morfotipos	Total de morfotipos
BMS	<i>Glomus</i>	12	14
	<i>Acaulospora</i>	2	
ST	<i>Glomus</i>	6	8
	<i>Acaulospora</i>	2	

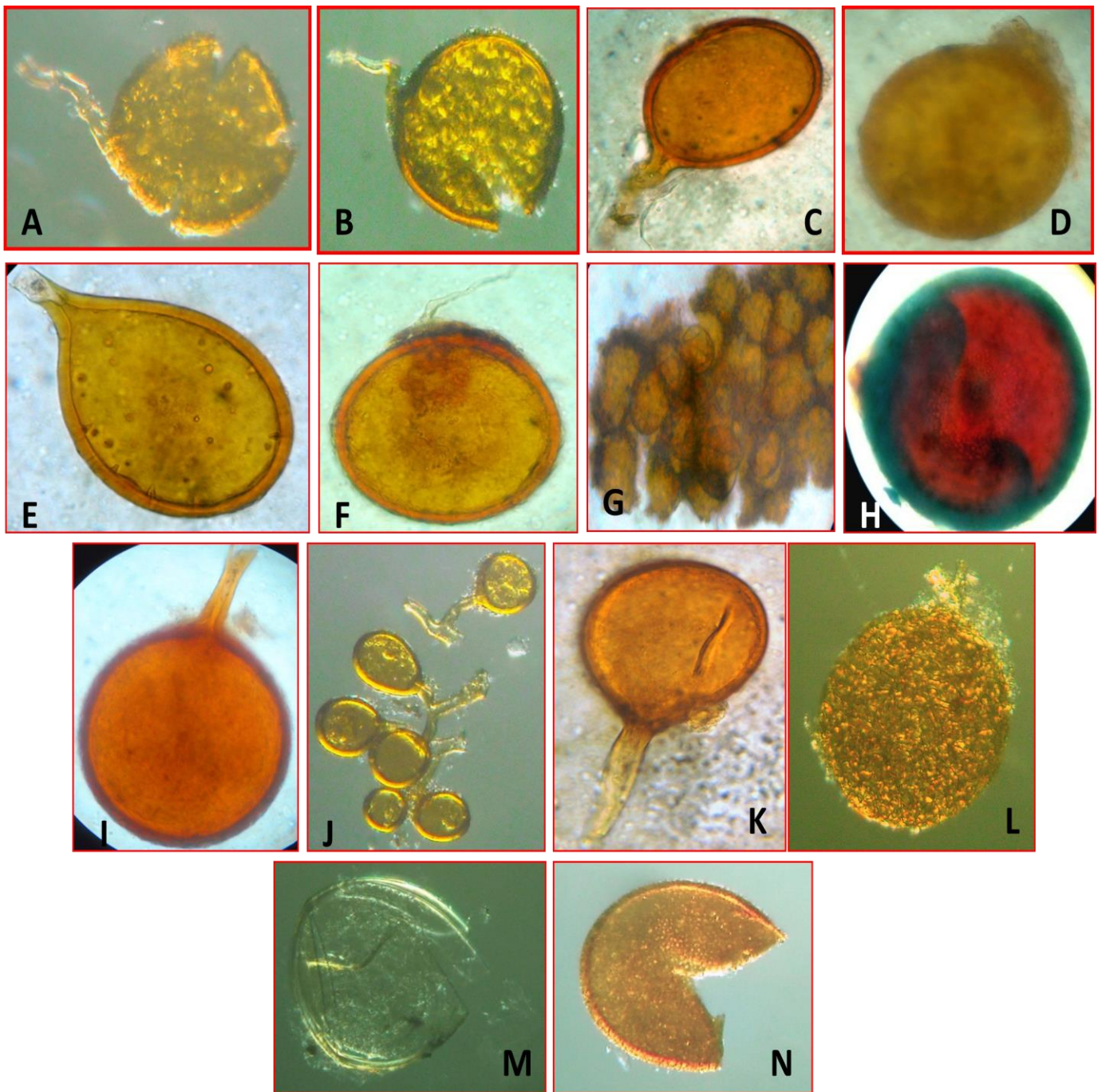


Figura 08. Morfotipos de esporas y esporocarpio de hongos micorrizicos arbusculares identificados en el sistema bajo bosque del genero *Glomus* sp.: **A).** Morfotipo 01, **B).** Morfotipo 02, **C).** Morfotipo 03, **D).** Morfotipo 04, **E).** Morfotipo 05, **F).** Morfotipo 06, **G).** Esporocarpio del Morfotipo 07, **H).** Morfotipo 08, **I).** Morfotipo 09, **J).** Morfotipo 10, **K).** Morfotipo 11, **L).** Morfotipo 12. Y Del genero *Acaulospora* sp., **M).** Morfotipo 01y **N).** Morfotipo 02.

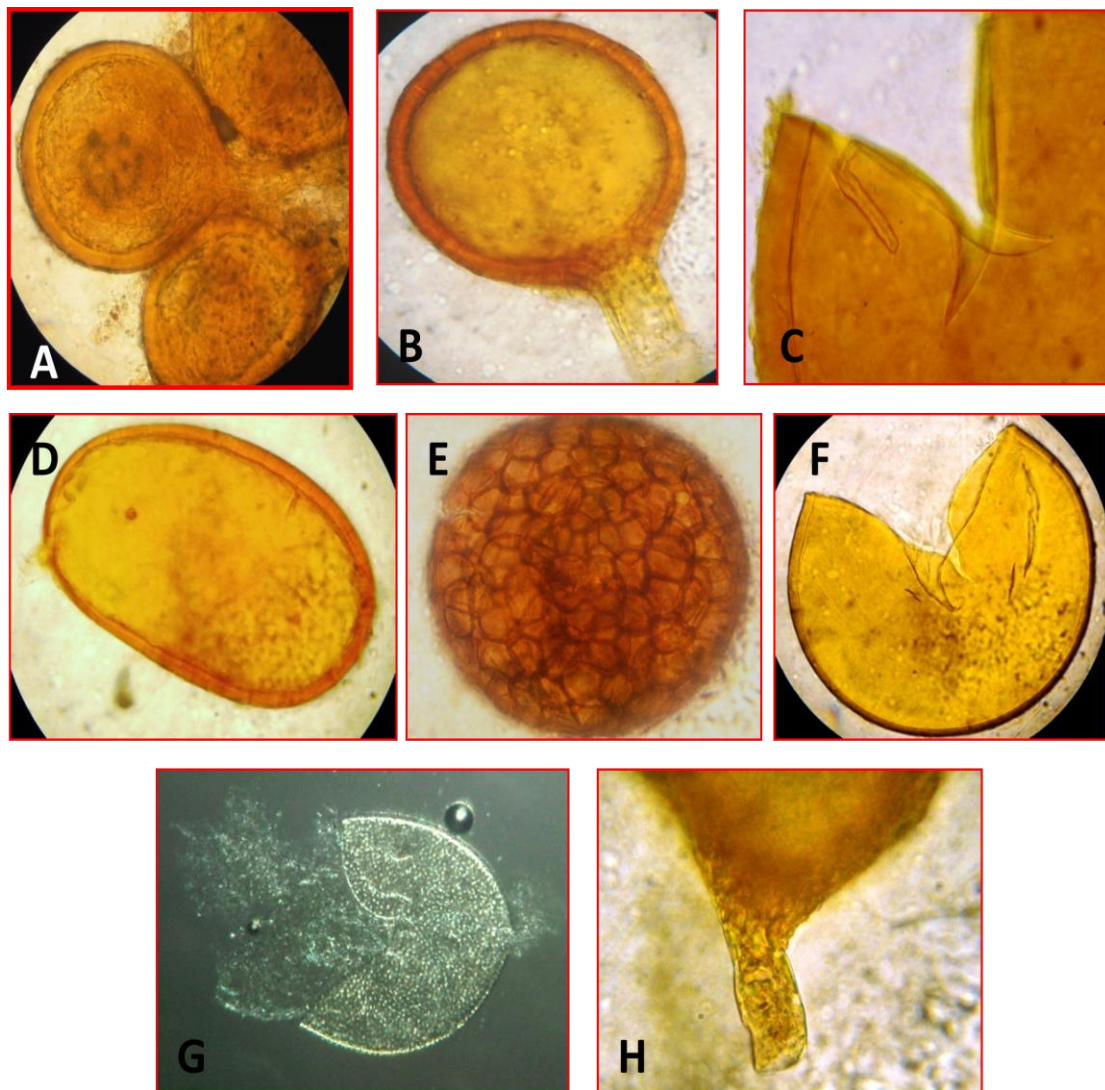


Figura 09. Morfotipos de esporas de hongos micorrizicos arbusculares identificado en el sistema tradicional del género *Glomus* sp.: **A).** Morfotipo 10, **B).** Morfotipo 13, **C).** Morfotipo 16, **D).** Morfotipo 14, **E).** Morfotipo 17, **H).** Morfotipo 15, y del género *Acaulospora* sp.: **F).** Morfotipo 03 y **G).** Morfotipo 04.

Descripción de morfotipos de hongos micorrizicos de los géneros identificados.

Glomus sp.: Las esporas se forman básicamente sobre una hifa subtending, simple, en grupos sueltos o en un esporocarpo. Las vesículas son elipsoidales y cercadas ligeramente. La hifa intrarradical raramente enrollado, con hifa ramificada que se conecta transversalmente. La pared de las esporas están formadas con un número viable de capas, todos se originan de la hifa subtending, la germinación es a través del lumen de la hifa subtending o a través de la pared de la espora. En otros casos se forman en el interior de esporocarpos en donde se disponen, de forma ordenada, radialmente en una capa simple alrededor de un plexo central de hifas estériles. Se encontraron 17 morfotipos de hongos micorrizicos arbusculares del género *Glomus*, ellos son:

Morfotipo 01: Espora de forma globosa, con un tamaño de 130 micras de color amarillo, superficie escamosa, con una apariencia de tres paredes, no forma esporocarpos, la conexión hifal es ligeramente curvado y presenta una sola hifa. Negativo ante la reacción de Melzer (Figura 8A).

Morfotipo 02: Espora de forma globosa, con un tamaño de 100 micras de color amarillo oscuro, superficie escamoso, presenta tres números de paredes, a diferencia del morfotipo 01, la pared interna es de color rojizo, la conexión es en forma lateral, presenta una sola hifa y negativo al reactivo de melzer (Figura 8B).

Morfotipo03: Espora de forma globosa, con un tamaño de 110 micras de color amarillo olivo, superficie lisa, con tres paredes, la conexión hifal es recto, con una hifa y negativo al reactivo de melzer (Figura 8C).

Morfotipo 04: Espora de forma globosa, con un tamaño de 130 micras de color naranja, superficie ornamentada, conexión hifal ancho y corto, de color amarillo translucido, más claro que la espora , está cubierto de detritos que dan una apariencia sucia, presenta una sola hifa y negativo al reactivo de melzer (Figura 8D).

Morfotipo 05: Espora de forma sub-globosa, con un tamaño de 150 micras, de color amarillo, superficie lisa, presenta dos paredes la pared interna es de color naranja, la conexión hifal es recto mide 12 micras de ancho, presenta una sola hifa y negativo al reactivo de melzer (Figura 8E).

Morfotipo 06: Espora de forma globosa, con un tamaño de 110 micras, de color café- rojizo, superficie liso hasta áspero, posee dos paredes, la conexión hifal es lateral, presenta una sola hifa y negativo al reactivo de melzer (Figura 8F).

Morfotipo 07: Esporocarpio de color café marrón, por ser jóvenes se organizan en un solo plano dando la impresión de formar esporocarpio alargado, las esporas están unidas alrededor de un plexo central, son de color amarillo cafeto con un tamaño entre 7/ 8 micras, forma aplanada y redondas, no se pudo distinguir las paredes, negativo al reactivo de melzer (Figura 8G).

Morfotipo 08: Espora de forma globosa, con un tamaño de 130 micras, de color café oscuro-rojizo al microscopio, superficie escamoso, posee dos paredes, la conexión hifal es gruesa, presenta una sola hifa y negativo al reactivo de melzer (Figura 8H).

Morfotipo 09: Espora de forma globosa, con un tamaño de 140 micras, de color amarillo rojizo, superficie liso, presenta tres paredes, la conexión hifal es recto, presenta una sola hifa y negativo al reactivo de melzer (Figura 8I).

Morfotipo 10: Esporas en grupos laxos, de forma globosa, de 40 a 130 micras de diámetro, de color amarillo, superficie lisa, posee un solo grupo de pared, la conexión hifal es recta de 8 a 10 micras de diámetro, negativo al reactivo de melzer (Figura 8J y Figura 9A).

Morfotipo 11: Espora de forma globosa, con un tamaño de 60 micras, de color amarillo naranja, superficie liso, posee tres paredes, la conexión hifal es recto y largo, presenta una sola hifa y negativo al reactivo de melzer (Figura 8K).

Morfotipo 12: Espora de forma globosa, con un tamaño de 120 micras, de color amarillo oscuro, superficie lisa, presenta tres paredes, la pared externa es la más ancha de color café oscuro, conexión hifal recto y ancho con 30 micras, presenta una sola hifa y negativo al reactivo de melzer (Figura 9B).

Morfotipo 13: Espora de forma sub-globosa, con un tamaño de 160 micras de largo y 90 micras de ancho, de color café oscuro a rojo amarillento, posee tres paredes, la conexión hifal a un costado y corto, posición polar, presenta una sola hifa y negativo al reactivo de melzer (Figura 9D).

Morfotipo 14: Espora de forma sub-globosa, con un tamaño de 190 micras de largo y 110 micras de ancho, de color amarillo naranja, presenta peridium, no se aprecia las paredes, la conexión hifal recta, presenta una sola hifa y negativo al reactivo de melzer (Figura 9H).

Morfotipo 15: Espora de forma sub-globosa, con un tamaño de 190 micras de largo y 140 micras de ancho, de color café amarillento, presenta dos paredes, conexión hifal ausente y negativo al reactivo de melzer (Figura 9C).

Morfotipo 16: Espora de forma globosa, con un tamaño de 100 a 120 micras, de color café oscuro, superficie escamosa, no se aprecia las paredes, la conexión hifal es ausente y negativo al reactivo de melzer. La espora presenta detritos, con mancha negra en el centro (Figura 9E).

Morfotipo 17: Espora de forma globosa, con un tamaño de 130 micras, tiene la apariencia de una espora sucia, por la presencia de detritos adheridos a su superficie, son de color naranja a rojo amarillento. Desarrolla un peridio de hifas que cubre la superficie de la espora, el manto que cubre no es tan denso y se puede observar la composición de la pared de la espora. Presenta dos paredes,

la conexión hifal no es fácil de observar, negativo al reactivo de melzer (Figura 8L).

Acaulospora sp.: Las esporas se forman lateralmente del cuello de un sáculo esporífero, los cuales dejan una cicatriz en la superficie de la espora. La pared de las esporas está formada por tres capas y dos paredes germinales internas, cada uno con dos capas delgadas que pueden estar adheridas. La pared germinal mas interna tiene una superficie adornada. La germinación es a través de círculo (Orbita) de germinación flexible. Se encontraron 04 morfotipos de hongos micorrizicos arbusculares del género *Acaulospora*, ellos son:

Morfotipo 01: Espora de forma globosa, con un tamaño de 160 micras, de color blanco al estereoscopio y blanco amarillo claro al microscopio, posee tres paredes, conexión hifal ausente y positivo al reactivo de melzer, la pared interna se torna de color amarillo naranja (Figura 8M).

Morfotipo 02: Espora de forma globosa, con un tamaño de 220 micras, de color rojo naranja a rojo oscuro, superficie ornamentada, posee tres paredes, la conexión hifal es ausente y negativo al reactivo de melzer (Figura 8N).

Morfotipo 03: Espora de forma globosa, con 170 micras, de color amarillo, superficie lisa, posee dos paredes la pared externa mide 4 micras que da el color a la espora, la pared interna se torna de color café a marrón, conexión hifal ausente y positivo al reactivo de melzer (Figura 9F).

Morfotipo 04: Espora de forma globosa, con un tamaño de 150 micras, de color blanco, superficie ornamentada con deprecaciones hasta 2 micras de diámetro, las cuales se ven uniendo hasta formar un patrón cerebroide, presenta tres capas, conexión hifal ausente y positivo al reactivo de melzer (Figura 9G).

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 Colonización micorrizica

6.1.1 Aspectos Anatómicos de la colonización micorrizica en cacao

En raíces de genotipos de cacao fue posible visualizar e identificar varias estructuras del HMA colonizando las raíces. Se observó hifas de los HMA, sin tinción (Figura 07-A), se logró identificar en células epidérmicas de la raíz, en el interior de las células corticales la formación de hifas intrarradicales (Figura 07-G), hifas tipo París (Figura 07-F) y tipo Arum (Figura 07-E), vesículas (Figura 07-CyD) y formación de estructura reproductiva, no se pudo apreciar arbusculas.

De acuerdo con la descripción de Smith & Read (1997), la presencia de arbuscúlos típicos, resultante de la intensa ramificación dicotómica en el interior de las células de las raíces del hospedero, es una característica de colonización tipo Arum. Por otro lado la presencia más abundante de hifas envolventes en el interior de las células de las raíces es característica del patrón de colonización tipo París.

6.2 Porcentaje de colonización micorrizica

El cuadro 02, muestra el ANVA para la colonización micorrizica en las raíces de genotipos de cacao bajo dos sistemas en época húmeda. Para el factor sistema, existen diferencias altamente significativas, lo que indica que los sistemas en estudio tienen influencia en la colonización; mientras que, en el factor genotipos no influyen en la colonización; sin embargo, para el factor interacción de sistema x genotipo, los resultados no difieren estadísticamente, indicando que dicha interacción no determina la colonización micorrizica ($p \leq 0.01$). Así mismo, el coeficiente de variabilidad fue de 5.48% y se considera que los datos fueron confiables, el coeficiente de determinación (R^2) explica un 66.00%, lo cual significa que el efecto de los tratamientos evaluados sobre la colonización micorrizica han influenciado en un 66.00%, debiéndose a otros factores externos no controlables como la precipitación, humedad del suelo, temperatura, pH, nivel del fósforo, el uso y tipo de fertilizante y otros, que han influenciado en un 34.00%.

El ANVA para la colonización micorrizica en las raíces de genotipos de cacao en época seca (Cuadro 03), indica que existen diferencia altamente significativa para el factor sistema, es decir, que los sistemas en estudio muestra influencia en la colonización micorrizica; mientras que, en el factor genotipos no influyen en la colonización; sin embargo, para el factor interacción de sistema x genotipo, los resultados no difieren estadísticamente, debido a que los factores tienen efectos independientes uno del otro sobre la colonización micorrizica ($p \leq 0.01$). Así mismo, el coeficiente de variabilidad fue de 17.09%, debiéndose a factores no

controlables, como la topografía, cobertura del suelo, diversidad de especie, propiedades químicas y físicas del suelo, etc., pero se considera que los datos fueron confiables, el coeficiente de determinación (R^2) explica un 51.00%, lo cual significa que el efecto de los tratamientos evaluados sobre la colonización micorrizica han influenciado en un 51.00%, debiéndose a otros factores externos no controlables como la precipitación, humedad del suelo, temperatura, pH, nivel del fósforo, el uso y tipo de fertilizante y otros, que han influenciado en un 49.00%.

En el cuadro 04 y gráfico 03, indican que existe diferencia significativa en la colonización micorrizica entre los sistemas de producción de cacao y épocas. En la época Húmeda, indica que en el sistema bajo bosque se determino el valor más alto en porcentaje de colonización con 82.04% de los genotipos evaluados; mientras que, en el sistema tradicional presento un menor porcentaje de colonización con 65.25%. Sin embargo, en la época seca, el sistema tradicional fue quien presento el mayor porcentaje de colonización con 65.76% y un menor porcentaje en el sistema bajo bosque con un 56.46% ($p \leq 0.01$).

En el cuadro 05 y gráfico 04, muestran el porcentaje de colonización micorrizica en diferentes genotipos promisorios de cacao bajo dos épocas de muestreo, donde indican que no hubo diferencias significativas entre los genotipos estadísticamente. Sin embargo, en la época húmeda el genotipo CCN-51, fue el que presentaron mayor porcentaje de colonización micorrizica con 84.45% y en el genotipo UF-613, presentó el menor porcentaje de colonización micorrizica con 62.22%. En cuanto a la época seca el genotipo que presento mayor

porcentaje de colonización micorrizica fue el U-30 con 67.22%, y el de menor porcentaje de colonización, fue el genotipo ICT-1026 con 50.00% ($p \leq 0.01$).

La colonización micorrizica en la época húmeda, el sistema bajo bosque presento mayor porcentaje de colonización que el sistema tradicional esto posiblemente se debe a que en el BMS no hubo desequilibrio ecológico; además, la presencia de arboles proporciona mayor cobertura y conservación de los recursos edáficos y biológicos, a comparación del ST, son técnicas de rozo, tumba, picacheo y quema, que conlleva a la degradación de los suelos y desequilibrio ecológico. Así mismo, el hongo encontró las condiciones favorables, como alta humedad por la diversidad de especies vegetales y la mayor biomasa existente en el suelo, que permitió la germinación de esporas ya que la escases de humedad puede afectar la colonización de la raíz, originando que las esporas colapsen y no puedan germinar (Sieverding, 1991, citado por Tapia, 2003).

Así mismo podemos ver que en estudios realizados en Brasil el aumento de la colonización micorrizica en Copuazú (*Theobroma grandiflorum*) fue observada en la época húmeda por Oliveira *et al.* (1998), citado por Da Silva; en otros estudios realizados en los trópicos mexicanos, también observaron en varias especie forestales, que tienen mayores porcentajes de colonización en la época lluviosa. Varios autores relacionan tales características a la mayor actividad de la raíz en esa época del año en la mayoría de las especies estudiadas (Allen *et al.* 1998, citado por Da Silva).

Mientras en la época seca disminuyo considerablemente el porcentaje de colonización micorrizica, en ambos sistemas de producción, la mayor colonización presento el sistema tradicional que el sistema bajo bosque, esta disminución del porcentaje de colonización micorrizica, puede estar relacionado con la fertilización inorgánica que fue aplicado en la primera semana del mes de agosto del año 2009. Los sistemas de producción de cacao, en el cual se está realizando dicho trabajo de investigación, es también campo experimental para otros trabajos, uno de ellos es la aplicación de fertilizante fosfatado, lo cual pudo haber causando efecto negativo a los hongos micorrizicos arbusculares.

La dosis de aplicación de fertilizante fosfatado utilizada en el BMS, fue de 287.26 Kg de P/ha y 187.20 Kg de P/ha, en el ST, lo cual podemos suponer que la alta dosis de fósforo pudo haber disminuido la colonización micorrizica en el BMS en la época seca, por haberse aplicado 287.26 Kg de P/ha en dicho sistema, lo que no ocurrió con el ST por ser dosis adecuadas para los HMA., manteniendo casi el mismo porcentaje de colonización con respecto a la época húmeda.

En otros trabajo de investigación el porcentaje de colonización descendió en todos los agroecosistemas a consecuencia de agregar 254 Kg de P/Ha, similares resultados obtuvieron Raznikiewicz *et al.*, (1994), citado por Blancel y Salas, 1997, también en campo.

Entonces los niveles de fósforo en el suelo tienen una relación directa con el porcentaje de colonización y el número de esporas, ya que este elemento limitante favorece el establecimiento de la simbiosis (Arcos & Benavides, 1996, citado por León, 2006).

El nivel de fósforo adicionado al suelo, indicaría que puede haber un nivel óptimo de P soluble en el suelo para estimular fuertemente la colonización micorrizica en el cultivo de cacao, ya que la mayor disponibilidad de P en el suelo aumenta las concentraciones de azúcares y ácidos orgánicos en las células corticales de las raíces, sin la penetración y/o crecimiento del hongo en la corteza, reduciendo de esta manera el grado de colonización (Simpson *et al.*, citado por Guzmán, 1991).

Los cambios en la fertilidad del suelo, debido a correcciones con fertilizantes minerales o abonamiento orgánico, pueden afectar marcadamente la actividad de la población micorrizica del suelo, en términos de la calidad de la raíz colonizada y el número de esporas producidas (Hayman, 1981, citado por Rodríguez, 2002).

Existen evidencias de que las concentraciones de P en las plantas es un factor que determina el comportamiento de la colonización micorrizica y producción de esporas de hongos MA, debido a que bajas cantidades de P en la planta disminuye la acumulación de fosfolípidos en las células y una mayor exudación de metabolitos como azúcares reducidos y aminoácidos, los cuales guardan una

relación muy estrecha con la colonización y desarrollo de los hongos micorrizicos arbusculares, así como la formación de esporas (Douds, 1990, citado por Guzmán, 1991).

La disminución del porcentaje de colonización en la época seca también puede deberse a las características del suelo, por ser de textura arcillosa, puede provocar en épocas secas el compactamiento, resultando esto un pobre intercambio de gases y en consecuencia una condición anaeróbica la que afecta negativamente al hongo.

Los suelos compactos no permiten una buena colonización de hongos micorrízicos (Diem, 1981, citado por Flores, 1988), tal vez por las condiciones tan adversas que pueda presentar para que estos hongos se establezcan. Sin embargo este resultado debe ser tomado con precaución ya que solo constituye un aspecto preliminar, y solo nos da la pauta para estudios más profundos sobre estos factores ecológicos en relación a la colonización micorrizica.

6.3 Número de esporas viables

El cuadro 06, muestra el ANVA, para la población de los HMA, en la rizósfera de genotipos de cacao durante la época húmeda. Donde los factores sistema y genotipos, resultaron ser significativos ($p \leq 0.05$), lo cual nos indica que existen diferencias significativas entre los niveles de ambos factores. Sin embargo, en la interacción sistema x genotipo, resulto ser no significativo, es decir, los factores tienen efectos independientes sobre el número de esporas de los HMA, Así

mismo, los datos resultaron ser muy confiables, puesto que el C.V. fue de 5.48 %, y el efecto de los tratamientos evaluados sobre el número de esporas solo han influenciado en un 57.00 % del coeficiente de determinación (R^2), debido, a otros factores externos no controlables como la precipitación, humedad del suelo, temperatura, pH, nivel de fósforo, el uso y tipo de fertilizante y otros, que han influenciado el 43.00%.

Sin embargo, el cuadro 07 muestra el ANVA del la población de los HMA en la rizósfera de genotipos de cacao muestreados en la época seca; donde indica que el factor sistema resulto altamente significativo, a comparación del factor genotipo, que resulto ser no significativo, lo cual indica que este no ha influencia en la población de esporas; así mismo, no hay significancia estadística para la interacción sistema genotipo, estos resultados muestran que ambos factores son independientes. , En cuanto, a los resultados del C.V los datos resultaron ser muy confiables, con un 10.66 % y el coeficiente de determinación (R^2) indica que el efecto de los tratamientos evaluados sobre el número de esporas solo han influenciado en un 49.00 %, debiéndose a otros factores externos no controlables como la precipitación, humedad del suelo, temperatura, pH, nivel de fósforo, el uso y tipo de fertilizante y otros, han influenciado en 51.00%.

El cuadro 08 y gráfico 05, indican que existen diferencias significativas en el número de esporas entre los sistemas de producción de cacao y épocas. En la época húmeda indica que, en sistema bajo bosque se encontró la mayor población de HMA con 7164.24 esporas/100 g de suelo; mientras que en el sistema tradicional presento una menor población de HMA con 5646.49 esporas

/100 g de suelo. Sin embargo en la época seca, el sistema bajo bosque también presento mayor número de esporas con 683.04/100 g de suelo y un menor número en el sistema tradicional con 370.59 esporas /100 g de suelo ($p \leq 0.05$).

En el cuadro 09 y gráfico 06, muestra el número promedio de esporas asociados a la rizósfera de los genotipos promisorios de cacao bajo dos épocas. En la época húmeda existen diferencias significativas entre los genotipos, donde el genotipo U-30 presento el valor mas alto con 10747.85 esporas/100g ss, a comparación del genotipo ICT-1026 presento el valor más bajo con 3573.18 esporas/100g ss. Por otro lado, en la época seca, no hubo diferencias significativas entre los genotipos; sin embargo, se encontró los valores mas altos en números de esporas en el genotipo U-30 con 812.08 esporas/100g ss y CCN-51 presento el valor mas bajo con 315.51 esporas/100g ss.

Comparando el BMS y el ST en ambas épocas, en el BMS es el más relevante con respecto al número de esporas, la diferencia de estos resultados, pudiera estar reflejando la influencia de otros factores del suelo, como pH, contenido de nutrientes, cobertura del suelo, biomasa y diversidad de especies las cuales se han reportado como factores que determinan la distribución de esporas (Cuenca y Meneses, 1996, citado por Morales y Durango, 2008).

La diferencia en la abundancia de esporas en los sistemas, con respecto a las épocas, puede estar relacionada con la aplicación de fertilizantes, como se menciona en la colonización micorrizica, la fertilización realizada en el campo

experimental, con dosis de aplicación de fertilizante fosfatado utilizada en el sistema BMS, fue de 287.26 Kg de P/ha y 187.20 Kg de P/ha, en el ST, pudieron haber causado la disminución de las esporas. En general los altos niveles de N y P afectan negativamente el funcionamiento de las micorrizas mientras que bajas fertilizaciones con P son benéficas (Kurle y Pfleger, 1994, citado por Blacol y Salas, 1997). Se deben asegurar niveles bajos de fósforo que pueden ser eficientemente movilizados por la simbiosis MA hacia la planta, alcanzando en ella niveles equivalentes, incluso aplicando una fertilización fosfatada (Peña *et al.*, 2006).

Las poblaciones de los hongos micorrizicos arbusculares en la época seca tuvieron poblaciones muy bajas llegando hasta niveles cero, el cual se esperaba una mayor población de los hongos micorrizicos arbusculares, debido a que los HMA por sentirse en condiciones adversas producen espores en abundancia.

Esto corrobora lo planteado por Bonilla (2000), en su investigación sobre utilización de hongos micorrizicos arbusculares en la producción agrícola realizada en el departamento del Cesar con varias especies de cultivos comerciales, quien afirma que en verano las plantas están bajo condición de estrés, el déficit de agua estimula la producción de esporas. También es concordante por lo expuesto por Guerrero (1996), que señala que un déficit en el suministro de agua crea una situación adversa que estimula la producción de esporas durante la época seca y conduce a la adaptación de las micorrizas arbusculares a esa condición de estrés hídrico en el suelo.

6.4 Identificación de los hongos micorrizicos arbusculares

Los géneros dominantes encontrados en este estudio son *Glomus sp.* y *Acaulospora sp.*, fueron los únicos que se encontraron en asociación a los genotipos en estudio bajo los dos sistemas de producción. Presentando 21 morfotipos de esporas, 14 morfotipos en el BMS y 8 morfotipos en el ST.

En este estudio se observó predominancia del género *Glomus* y *Acaulospora*, siendo la mayor incidencia con 17 morfotipos pertenecientes al género *Glomus*, donde se aprecia una mayor ocurrencia en los dos sistemas de producción de cacao. Este género es el más abundante y el que presenta mayores interrogantes en su filogenia y taxonomía, lo cual indica el enorme campo de investigación que aun existe alrededor de este género. También se encontró el género *Acaulospora*, y fueron 4 los morfotipos encontrados para este género.

La gran predominancia de los géneros *Glomus* y *Acaulospora* en este trabajo confirma el amplio padrón de distribución de estos géneros, observados también por otros autores en la zona tropical, en tanto en ecosistemas naturales como en agroecosistemas (Cuenca & Meneses, 1996; Feldeman *et al.*, 2002; Fernandez & Siqueira, 1989; Franca, 2004; Johnson & Wedin, 1997; Wilson *et al.*, 1994; Zhao *et al.*, 2001, citado por Da Silva, 2004). Los géneros *Glomus* y *Acaulospora* fueron observados en los dos sistemas de producción. El género *Glomus* también ha sido encontrado predominante en suelos convencionalmente cultivados (Jansa *et al.*, 2002; Oehl *et al.*, 2003). Este padrón de distribución sería un indicativo de que estos géneros presentan una alta capacidad adaptativa a las anchas bandas de condiciones ambientales.

Para el departamento de Guaviare, Ochoa (1997), quien tuvo el apoyo del Dr. Edward Sieverdind en las determinaciones de hongos micorrizicos asociados al género *Theobroma* en el municipio de San José de Guaviare, reporto también a los géneros *Glomus* y *Acaulospora* predominantes en *Theobroma*, (Peña *et al.*, 2006). Salamanca y Silvia (1998) reportaron para el mismo municipio a *Glomus* como el género más abundante, ocupando el 54.5% del total de la muestra compuesta, el segundo género en abundancia fue *Acaulospora* ocupando el 27.3% de la muestra.

Para el departamento de Amazonas Arcos, 2003, citado por Peña *et al.*, 2006, reporto la dominancia del género *Glomus* en la composición micorrizica del trapecio Amazónico y la presencia de *Acaulospora* asociados a suelos mas ácidos.

Trabajos realizados en Yurimaguas, en la Amazonía Peruana, Ruiz, 1992, Identificó algunas especies nativas para los suelos Ultisoles en esta región, esporas del género *Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora* y *Entrophospora*. Predominando el género *Glomus* y *Scutellospora*.

VII. CONCLUSIONES

- 7.1 La colonización micorrizica de los HMA fue mayor en el sistema BMS con 82.04%, a comparación del sistema ST con 65.25% en la época húmeda; sin embargo, en la época seca el sistema ST presento una mayor colonización con 65.76% a comparación del BMS con 56.46%.
- 7.2 No existe diferencia significativa en la colonización micorrizica de las raíces de los genotipos promisorios de cacao en los dos sistemas de producción en ambas épocas de muestreo.
- 7.3 La mayor población de esporas presentó el BMS con un promedio de 7 164.24 y el ST con 5 818.74 en la época húmeda, mientras en la época seca, el BMS y el ST, presentaron valores muy bajos con un promedio de 683.04 y 370.59 esporas respectivamente.
- 7.4 En el número promedio de esporas asociados a la rizósfera de los genotipos promisorios de cacao en la época húmeda existió diferencias significativas entre los genotipos, donde el genotipos U-30 presento el valor mas alto con 10747.85 esporas/100g ss, a comparación del genotipo ICT-1026 presento el valor más bajo con 3573.18 esporas/100g ss. Mientras en la época seca, no hubo diferencias significativas entre los genotipos; sin embargo, se encontró los valores más altos en números de esporas en el genotipo U-30 con 812.08 esporas/100g ss y CCN-51 presento el valor más bajo con 315.51 esporas/100g ss.

7.5 La riqueza de los morfotipos fue baja ya que solamente se identificaron 21 morfotipos correspondiente a especies del género, *Glomus* y *Acaulospora*, siendo el género *Glomus* el más predominante en los suelos de los dos Sistema de producción.

VIII. RECOMENDACIONES

- 8.1 Se debe continuar evaluando en diferentes estaciones y en periodos continuos, con la finalidad de determinar el comportamiento de los HMA, por ser microorganismos muy dinámicos.
- 8.2 Se recomienda a partir de esta investigación, realizar evaluaciones considerando otros factores en estudio, como pH, contenido de nutrientes, cobertura del suelo, biomasa, y distribución de plantas, etc.
- 8.3 Se debe hacer un inventario de los HMA presentes en diferentes épocas e identificar los morfotipos encontrados a nivel de género.
- 8.4 Los resultados obtenidos a partir de esta investigación debe servir para motivar a realizar posteriores trabajos de investigación, por lo que se recomienda hacer trabajos en propagación e inoculación.

XI. BIBLIOGRAFÍA

1. AREVALO, G. E, ZUÑIGA, C. L. B, ARÉVALO A. C. E y ADRIAZOLA del A. J. 2003.
“CACAO. Manejo Integrado del Cultivo y Transferencia de Tecnología en la Amazonia Peruana”. Instituto de Cultivos Tropicales. Tarapoto-Perú.
366 p.
2. ASOCIACIÓN PERUANA DE PRODUCTORES DE CACAO – APPCACAO. 2009.
http://appcacao.org/index.php?option=com_content&task=view&id=431&Itemid=39/: Revisado 01 junio, 2010.
3. BAGO, B. 2000. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas.
Plant Physiol. 124:1-10.
4. BAREA, J. 2002. Rhizosphere and mycorrhizal of field crops. Science and policy.
5. BLANCOL A. F. y SALAS A. E. 1996. Micorrizas en la agricultura: Contexto mundial e investigación realizada en costa rica. Rev. Agronomía Costarricense 21(1):55-67.1997.
6. BONILLA B. 2000. Utilización de hongos micorrizógenos en la producción agrícola. CORPOICA. Boletín de investigaciones 3:44-45.
7. CABRALES., E. M. 2006. Dinámica nutrimental y caracterización microbiológica de los suelos sulfatados ácidos Del Valle Del Sinú – Colombia. Trabajo de investigación. Universidad de Cordova – Colombia. 30:33 p.

8. CORNEJO, P. E. 2006. Influencia de la cobertura vegetal sobre la diversidad y estructura de las comunidades de hongos micorrizcos y sus efectos en la estabilización de suelos degradados. Granada-2006. 24 p.
9. DA SILVA, J. P. 2004. Comunidades de fungos micorrízicos arbusculares associadas à pupunha e ao cupuaçu cultivados em sistemas agroforestal e em monocultivo na amazônia central. Tesis de Doctor en agronomía. São Paulo, Brasil, CIP. 35 p.
10. DEA – San Martín, 2009. Dirección de Información Agraria, datos estadísticos, 2008, Tarapoto-San Martín.
11. DE SOUSA, F. A., LIMA DA S, I. C. y LOURO B, R. L. Fungos micorrizcos arbusculares: Muito mais diversos do que se imaginava. Rev. BiodiversidadeA. (17-10-07), 501 p.
12. ENRIQUEZ, G. A. 1966. Selección y estudio de las características de la flor, la hoja y la mazorca, útiles para la identificación y descripción de cultivares de cacao. Tesis Mag.Sc. Turrialba, CR, IICA. 97 p.
13. FLORES , M del R.1988. Caracterización de la micorriza vesiculo arbuscular en limón *citrus aurantifolia* Swin., en cinco agroecosistemas en el estado de colima. Tesis de maestría en ciencias biológicas y agropecuarias. Colombia. 65 p.

14. GANDARA, F. B. y KAGEYAMA, P. Y. 2001. Biodiversidade e dinâmica em sistemas agroflorestais. In. CONGRESO BRASILEIRO DE SISTEMAS AGROFLORESTAIS, 3. , Manaus, 2000. Palestras. Manaus: Embrapa Amazonia Occidental, 2001.p. 25-33.
15. GERDEMAN, J. W. y NICOLSON, T. H. 1963. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans Br. Mycol. Soc. 46:235-244. GIANINAZZI-PEARSON, V. 1991. Role and use of mycorrhizae in horticulture crop production. Aust. J. Amer. Soc. Hort. Sci. Sc. 4:p.25-30.
16. GUERRERO, E. 1996. Micorrizas, recurso biológico del suelo. Fondo FEN de Colombia. Bogotá, 208 p. ISBM 958-9129-37-4.
17. GUZMAN, G. S. 1991. Influencia del fosforo sobre la colonización y producción de esporas de hongos micorrizicos vesiculo-arbusculares en tres hospederos a diferentes tiempos de desarrollo. Tesis de maestría en biología. Tecoman, Colima-Colombia. 2:31 p.
18. ICCO. (Organización Internacional del Cacao). 2003. Resumen Estadístico. (Boletin del Cacao GB 21).
19. INVAM, 2006. Internacional Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi. "INVAM". <http://invam.caf.wvu.edu/>. Consulta: Junio de 2006.

20. LEON, D. 2006. Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a yuca (*Manihot esculenta* sp) en dos regiones de la amazonia Colombiana. Tesis de grado en microbiología agrícola y veterinaria. Colombia.
21. MINISTERIO DE AGRICULTURA (MINAG) 2004. Disponible desde internet:
<http://frenteweb.minag.gob.pe>
22. MORALES, L. A., CASTILLO, R. C., RUBIO, H. R., GODOY, B. R., ROUANET, M. J y BORIE B. F. 2001. Niveles de glomalina en suelos de dos ecosistemas del sur de Chile. Niveles de glomalina en suelos (37-45).
23. MORALES R. y DURANGO W. 2008. Resultados en la obtención de inoculos nativos de hongos micorrizicos en cultivos de cacao (*Theobroma cacao*) y soya (*Gycine max*). XI Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo. Quito, 29-31 de octubre del 2008.
24. MORENO P, CADAVID, CUBILLOS Z. y SANCHEZ L. 1983. Manual para el Cultivo del Cacao. Editado por la Compania Nacional de Chocolates S.A.
25. NAIR, P. K. R. 1993. An Introdution to agroforestry. Boston: Kluwer Academic, 1993.499p.

26. LEON, J. 1987. Botánica de los cultivos tropicales. IICA. San José, Costa Rica, 104 p.
27. LOPEZ, M., LOPEZ DE ROJAS, I., ESPAÑA, M., IZQUIERDO, A. y HERRERA, L. 2007. Efecto de la fertilización inorgánica sobre la disponibilidad de nutrimentos en el suelo, nivel nutricional de la planta y hongos micorrizicos arbusculares en plantaciones de *Theobroma cacao*. *A gronomia trop.* 57(1):31-43.2007.
28. OCHOA, O. C. 1997. Reconocimiento de hongos formadores de micorrizas vesicuo-arbuscular (MVA) en cacao (*Theobroma cacao*), Maraco (*T. bicolor*) y Copuazu (*T. grandiflorum*), em condiciones de campo en San José Del Guaviare-Colombia. Departamento de Biología. Universidad Nacional de Colombia. Tesis de Pregrado. 96 p.
29. PEÑA-VANEGAS C. P., CARDONA G. I, MAZORRA, ARGELLES J. H. y ARCOS A. L. 2006. Micorrizas arbusculares de la Amazônia colombiana. Catalogo ilustrado. Instituto Amazónico de investigaciones científicas SINCHI (En prensa).
30. PEREZ C., ALEXANDER. FUENTES C., JUSTO. 2007. Regresión logística en la evaluación de la esporulación de micorrizas en Pasto *Bothrriochloa pertusa* (L) A. Camus. *Rev. Colombiana cie. Anim.* 1(1).2009.

31. PHILLIPS, J. AND M. HAYMAN. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55:158-161.
32. RUIZ, O. P. 1992. Significado de las micorrizas para la agroforestería en ultisoles de la amazonia. Rev. N° SA-04 Suelos Amazónicos, publicación del proyecto suelos tropicales. Lima-Perú. Pág. 11 y 27.
33. RUIZ, O. P. 2008. Las micorrizas: ¿son importantes para los sistemas agroforestales de la amazonia? XI Congreso Nacional y IV Internacional de la Ciencia del Suelo. Tarapoto. Perú. Pág. 26.
34. SALAMANCA, C. R. y SILVIA, M. R. 1998. Las micorrizas como alternativa para el manejo sostenible de los agroecosistemas tropicales. Boletín técnico N°. 12. CORPOICA. 26p.
35. SANCHEZ, P. A. 1982. Suelos de la Amazonia y su manejo para producción continúa de cultivos. Suelos Ecuatoriales – Volumen XII, 2 – 1982. 30 p.
36. SCHENK, N.C. y PEREZ, Y. 1990. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. 3th Edition. Sinergistic Publications. Gainesville.
37. SCHÜßLER, A. AND C. WALKER. 2004. Nomenclatural clarifications and new taxa in the Glomeromycota. *Mycol. Res.* 108(9):1105-1106.

38. TAPIA, G. J. J. 2003. Identificación de hongos micorrizicos arbusculares aislados de suelos salinos y su eficiencia en plantas de lechuga. Tesis de doctorado en biotecnología. Tecoman, Colima-Colombia.10:39 p.
39. TECNOLOGÍA PARA EL MEJORAMIENTO DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE CACAO. 2000. Compiladores Luis Antonio Mejía Flores; Orlando Argüello Castellanos. Publicación CORPOICA Minister.

